

## **EXHIBIT A**

Polypeptide having an activity to support proliferation or survival of hematopoietic stem cell or hematopoietic progenitor cell, and DNA coding for the same

造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖または生存を支持し得るポリペプチド  
およびそれをコードするDNA

発明の背景

技術分野

本発明は、造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖または生存を支持し得るポリペプチド、同ポリペプチドをコードするDNA、および、同ポリペプチドを含む医薬組成物に関する。

従来の技術

生体中の成熟血液細胞の寿命は短期間であり、絶えず造血前駆細胞の分化により成熟血液細胞が供給されることにより、血液の恒常性が保たれている。造血前駆細胞は、さらに未分化な造血幹細胞の分化により生成する。造血幹細胞は、各種の分化系列に分化できる能力（分化多能性）を有しているとともに、分化多能性を保持したまま自己複製することで生涯にわたり、造血細胞を供給する。つまり、自己複製することで分化多能性を持つ幹細胞を生じるとともに、一部は造血前駆細胞を経て各種の成熟血液細胞に分化することが知られている。

このような血液細胞の分化は、種々のサイトカインにより調節されている。エリスロポエチンは赤血球系の細胞の分化を促進し、G-CSFは好中球系の、トロンボポエチンは巨核球、血小板産生細胞の分化を促進することが知られている。しかしながら、造血幹細胞が分化多能性を保持したまま自己複製するに際し、どのような因子が必要とされるかは分かっていない。造血幹細胞の増殖因子として、SCF/MGF (Williams, D. E., Cell, 63:167-174, 1990; Zsebo, K. M., Cell, 63:213-224, 1990) や、SCGF (W098/08869) などいくつかの報告があるが、いずれも造血幹細胞の分化多能性を十分に維持する作用を有していない。また、既知のサイトカインを複数組み合わせて添加することにより造血幹細胞を培養する試みがなされているが、造血幹細胞を効率的に増幅させる系の確立はできていない (Miller CL, Proc.

造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖または生存を支持し得るポリペプチド  
およびそれをコードするDNA

発明の背景

技術分野

本発明は、造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖または生存を支持し得るポリペプチド、同ポリペプチドをコードするDNA、および、同ポリペプチドを含む医薬組成物に関する。

背景

生体中の成熟血液細胞の寿命は短期間であり、絶えず造血前駆細胞の分化により成熟血液細胞が供給されることにより、血液の恒常性が保たれている。造血前駆細胞は、さらに未分化な造血幹細胞の分化により生成する。造血幹細胞は、各種の分化系列に分化できる能力（分化多能性）を有しているとともに、分化多能性を保持したまま自己複製することで生涯にわたり、造血細胞を供給する。つまり、自己複製をすることで分化多能性を持つ幹細胞を生じるとともに、一部は造血前駆細胞を経て各種の成熟血液細胞に分化することが知られている。

このような血液細胞の分化は、種々のサイトカインにより調節されている。エリスロポエチンは赤血球系の細胞の分化を促進し、G-CSFは好中球系の、トロンボポエチンは巨核球、血小板産生細胞の分化を促進することが知られている。しかしながら、造血幹細胞が分化多能性を保持したまま自己複製するに際し、どのような因子が必要とされるかは分かっていない。造血幹細胞の増殖因子として、SCF/MGF (Williams, D. E., Cell, 63:167-174, 1990; Zsebo, K. M., Cell, 63:213-224, 1990) や、SCGF (W098/08869) などいくつかの報告があるが、いずれも造血幹細胞の分化多能性を十分に維持する作用を有していない。また、既知のサイトカインを複数組み合わせて添加することにより造血幹細胞を培養する試みがなされているが、造血幹細胞を効率的に増幅させる系の確立はできていない (Miller CL, Proc.

Natl. Acad. Sci. USA, 94:13648-13653, 1997; Yagi M., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 96: 8126-8131, 1999; Shih C. C. Blood, 94:5 1623-1636 1999)。

一方、造血細胞の維持、増殖に適した環境を提供するストローマ細胞を利用して造血幹細胞を分化させずに維持、増殖させる試みがなされている (Moore K. A., Blood, 89:12 4337-4347 1997)。また、W099/03980には、マウス胎児のAGM (Aorta-Gonad-Mesonephros) 領域から株化された、造血幹細胞および造血前駆細胞の増殖または生存を支持し得るストローマ細胞株が開示されている。

これまでの造血細胞に作用する因子に加え、ストローマ細胞とともに、あるいはサイトカインなどの刺激因子とともに、あるいは単独で、造血幹細胞、および造血前駆細胞を効率的に増幅させる効果を持つ新たなペプチドを見いだすことが可能であると考えられる。

#### 発明の概要

ストローマ細胞と造血幹細胞および造血前駆細胞の共培養により、造血幹細胞および造血前駆細胞の生体外での増殖または生存を支持することが可能であることから、造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖または生存を支持する因子がストローマ細胞により生産されていることが予想される。本発明は、ストローマ細胞から、造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖または生存を支持する因子を提供することを課題とするものである。

本発明者らは、前述の如く、造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖または生存を支持する因子がマウス由来ストローマ細胞により生産されていることを予想した。そして、ストローマ細胞の中には、造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖または生存を支持する能力（以下、「造血幹細胞支持活性」ということがある）を持つストローマ細胞と造血幹細胞支持活性をもたないストローマ細胞が存在することに注目した。本発明者らは、このような能力の違いは、造血幹細胞支持活性を担う因子をコードする遺伝子の発現が造血幹細胞支持活性を持つストローマ細胞では亢進し、造血幹細胞支持活性を持たないストローマ細胞では低いことによると推測し、

造血幹細胞支持活性を有する細胞において発現の高い遺伝子の中から造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖または生存を支持する因子を同定することが可能であると考えた。その結果、造血幹細胞支持活性を有するAGM-s3-A9細胞で発現が高く、造血幹細胞支持活性を有さないAGM-s3-A7細胞で発現が低い、あるいは発現していない遺伝子を同定し、これらの遺伝子群を強発現させた細胞の造血幹細胞支持活性がを評価することにより、本発明を完成するに至った。

すなわち、本発明は以下のとおりである。

(1) 以下の(A)または(B)のポリペプチドをコードするDNA。

(A) 配列番号19、配列番号23、および、配列番号25からなる群から選ばれるアミノ酸配列を少なくとも有するポリペプチド。

(B) (A)に記載のアミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸が置換、欠失または挿入されたアミノ酸配列を有し、かつ、造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖または生存を支持する活性を有するポリペプチド。

(2) 以下の(a)または(b)のDNAである(1)記載のDNA。

(a) 配列番号18において塩基番号1～444からなる塩基配列、配列番号22において塩基番号642～1370からなる塩基配列、および、配列番号24において塩基番号132～506からなる塩基配列からなる群から選ばれる塩基配列を少なくとも有するDNA。

(b) (a)に記載の塩基配列を有するDNAまたは同DNAから調製され得るプローブとストリンジエントな条件下でハイブリダイズし、かつ、造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖または生存を支持する活性を有するポリペプチドをコードするDNA。

(3) 前記ストリンジエントな条件が、6×SSC、5×Denhardt、0.5% SDS、68°C (SSC; 3M NaCl、0.3M クエン酸ナトリウム) (50×Denhardt; 1% BSA、1% ポリビニルビロリドン、1% Ficoll 400) または6×SSC、5×Denhardt、0.5% SDS、50% ホルムアミド、42°Cである(2)記載のDNA。

(4) (1)～(3)のいずれかに記載のDNAを発現可能な形態で含む発現ベクター。

(5) (1)～(3)のいずれかに記載のDNAが発現可能な形態で導入された細胞。

(6) (1)～(3)のいずれかに記載のDNAの発現産物であり、造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖または生存を支持する活性を有するポリペプチド。

(7) 配列番号19、配列番号23、および、配列番号25からなる群から選ばれるアミノ酸配列、または、このアミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸が置換、欠失または挿入されたアミノ酸配列を有する(6)記載のポリペプチド。

(8) ポリエチレングリコール(PEG)、デキストラン、ポリ(N-ビニルービロリドン)、ポリプロピレングリコールホモポリマー、ポリプロピレンオキシド/エチレンオキシドのコポリマー、ポリオキシエチル化ポリオール、ポリビニルアルコールのいずれか、またはそれらの2種以上の組合せによって修飾された(6)または(7)に記載のポリペプチド。

(9) (6)～(8)のいずれかに記載のポリペプチドに結合するモノクローナル抗体。

(10) 以下の(A)または(B)のポリペプチドをコードするDNAが発現したストローマ細胞を造血幹細胞または造血前駆細胞と共に培養することを含む、造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖または生存を支持する方法。

(A) 配列番号9、配列番号11、配列番号13、配列番号15、配列番号17、配列番号19、配列番号21、配列番号23、配列番号25、配列番号27、および、配列番号29からなる群から選ばれるアミノ酸配列を少なくとも有するポリペプチド。

(B) (A)に記載のアミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸が置換、欠失または挿入されたアミノ酸配列を有し、かつ、造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖または生存を支持する活性を有するポリペプチド。

(11) DNAが以下の(a)または(b)のDNAである(10)記載の方法。

(a) 配列番号8において塩基番号1～1671からなる塩基配列、配列番号10において塩基番号1～1674からなる塩基配列、配列番号12において塩基番号1～366からなる塩基配列、配列番号14において塩基番号84～1121から

なる塩基配列、配列番号 1 6 において塩基番号 1 ～ 1 0 3 5 からなる塩基配列、配列番号 1 8 において塩基番号 1 ～ 4 4 4 からなる塩基配列、配列番号 2 0 において塩基番号 1 ～ 4 4 4 からなる塩基配列、配列番号 2 2 において塩基番号 6 4 2 ～ 1 3 7 0 からなる塩基配列、配列番号 2 4 において塩基番号 1 3 2 ～ 5 0 6 からなる塩基配列、配列番号 2 6 において塩基番号 1 ～ 2 4 8 7 からなる塩基配列、および、配列番号 2 8 において塩基番号 1 ～ 2 4 9 6 からなる塩基配列からなる群から選ばれる塩基配列を少なくとも有する D N A 。

(b) (a) に記載の塩基配列を有する D N A または同 D N A から調製され得るプローブとストリンジエントな条件下でハイブリダイズし、かつ、造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖または生存を支持する活性を有するポリペプチドをコードする D N A 。

(1 2) 以下の (A) または (B) のポリペプチドであって、その存在下で造血幹細胞または造血前駆細胞を培養したときに造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖または生存を支持する活性を示すポリペプチドの存在下で造血幹細胞または造血前駆細胞を培養することを含む、造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖または生存を支持する方法。

(A) 配列番号 9 、配列番号 1 1 、配列番号 1 3 、配列番号 1 5 、配列番号 1 7 、配列番号 1 9 、配列番号 2 1 、配列番号 2 3 、配列番号 2 5 、配列番号 2 7 、および、配列番号 2 9 からなる群から選ばれるアミノ酸配列を少なくとも有するポリペプチド。

(B) (A) に記載のアミノ酸配列において、1 若しくは数個のアミノ酸が置換、欠失または挿入されたアミノ酸配列を有し、かつ、造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖または生存を支持する活性を有するポリペプチド。

(1 3) 以下の (A) または (B) のポリペプチドであって、その存在下で造血幹細胞または造血前駆細胞を培養したときに、造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖または生存を支持する活性を示すポリペプチドを有効成分として含む、造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖または生存を支持し得る医薬組成物。

(A) 配列番号 9 、配列番号 1 1 、配列番号 1 3 、配列番号 1 5 、配列番号 1 7 、

配列番号19、配列番号21、配列番号23、配列番号25、配列番号27、および、配列番号29からなる群から選ばれるアミノ酸配列を少なくとも有するポリペプチド。

(B) (A)に記載のアミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸が置換、欠失または挿入されたアミノ酸配列を有し、かつ、造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖または生存を支持する活性を有するポリペプチド。

本明細書において用いる用語につき、以下の通り定義する。

造血幹細胞とは、血球の全ての分化系列に分化し得る多分化能を有する細胞であり、かつ、その多分化能を維持したまま自己複製することが可能な細胞である。造血前駆細胞とは、単一の血液細胞分化系列あるいは、全てではない複数の分化系列に分化できる細胞を称する。ストローマ細胞とは、生体内の造血環境を模してインビトロで造血環境を再現させようとするときに使用できる造血幹細胞と共に培養に供すことが可能な細胞を指す。試験管内で造血細胞と共に培養できる細胞であればその由来を問わない。

赤血球前駆細胞は、試験管内の培養環境で維持増幅させることは困難であり急速に消失してしまう。赤血球前駆細胞の維持、増殖が確認される場合は、より未分化な造血幹細胞あるいは造血前駆細胞が維持、増殖されることで、赤血球前駆細胞が継続的に産生されていることと考えられる。従い、ヒト造血幹細胞の評価系では、赤血球前駆細胞(BFU-E、CFU-E、CFU-Emix)が維持、増殖されているかを指標とすることで造血幹細胞あるいは未分化な造血前駆細胞が増殖していることを確認することができる。

#### 図面の簡単な説明

図1は、CD34陽性造血幹細胞とAGM-s3サブクローンA9、A7、D11とを2週間共培養した後のコロニーアッセイによる造血幹細胞および造血前駆細胞の増殖状況を示す図である。

図2は、CD34陽性造血幹細胞とAGM-s3サブクローンA9、A7、またはOP9細胞とを2週間共培養した後のコロニーアッセイによる造血幹細胞および造血前駆細胞の増

殖状況を示す図である。

図3は、各種ストローマ細胞株と共に培養した造血幹細胞を移植された放射線照射マウスの末梢血における、骨髄球系およびリンパ球系細胞のドナー由来細胞キメリズムの経時変化を示す図である。

図4は、CD34陽性造血幹細胞と、遺伝子SCR-2を強発現するAGM-S3-A9細胞（A9/S CR-2）、コントロールベクターを導入したAGM-S3-A9細胞（A9/pMXIG）、または、AGM-S3-A9細胞（A9）とを2週間共培養した後のコロニーアッセイによる造血幹細胞および造血前駆細胞の増殖状況を示す図である。

図5は、CD34陽性造血幹細胞と、遺伝子SCR-2を強発現するAGM-S3-A7細胞（A7/S CR-2）、コントロールベクターを導入したAGM-S3-A7細胞（A7/pMXIG）、または、AGM-S3-A7細胞（A7）とを2週間共培養した後のコロニーアッセイによる造血幹細胞および造血前駆細胞の増殖状況を示す図である。

図6は、遺伝子SCR-3を強発現するAGM-S3-A7細胞（A7/SCR-3）、コントロールベクターを導入したAGM-S3-A7細胞（A7/pMXIG）、または、AGM-S3-A7細胞（A7）と共に培養した造血幹細胞を移植された放射線照射マウスの末梢血における、骨髄球系およびリンパ球系細胞のドナー由来細胞キメリズムの経時変化を示す図である。

図7は、CD34陽性造血幹細胞と、遺伝子SCR-4を強発現するAGM-S3-A9細胞（A9/S CR-4）、コントロールベクターを導入したAGM-S3-A9細胞（A9/pMXIG）、または、AGM-S3-A9細胞（A9）とを2週間共培養した後のコロニーアッセイによる造血幹細胞および造血前駆細胞の増殖状況を示す図である。

図8は、遺伝子SCR-5を強発現するAGM-S3-A7細胞（A7/SCR-5）、コントロールベクターを導入したAGM-S3-A7細胞（A7/pMXIG）、または、AGM-S3-A7細胞（A7）と共に培養した造血幹細胞を移植された放射線照射マウスの末梢血における、骨髄球系およびリンパ球系細胞のドナー由来細胞キメリズムの経時変化を示す図である。

図9は、CD34陽性造血幹細胞と、遺伝子SCR-6を強発現するAGM-S3-A9細胞（A9/S CR-6）、コントロールベクターを導入したAGM-S3-A9細胞（A9/pMXIG）、または、AGM-S3-A9細胞（A9）とを2週間共培養した後のコロニーアッセイによる造血幹細胞および造血前駆細胞の増殖状況を示す図である。

図10は、CD34陽性造血幹細胞と、遺伝子SCR-7を強発現するAGM-S3-A9細胞（A9/SCR-7）、コントロールベクターを導入したAGM-S3-A9細胞（A9/pMXIG）、または、AGM-S3-A9細胞（A9）とを2週間共培養した後のコロニーアッセイによる造血幹細胞および造血前駆細胞の増殖状況を示す図である。

図11は、CD34陽性造血幹細胞と、遺伝子SCR-8を強発現するAGM-S3-A9細胞（A9/SCR-8）、コントロールベクターを導入したAGM-S3-A9細胞（A9/pMXIG）、または、AGM-S3-A9細胞（A9）とを2週間共培養した後のコロニーアッセイによる造血幹細胞および造血前駆細胞の増殖状況を示す図である。

#### 発明の詳細な説明

以下、本発明を詳細に説明する。

造血幹細胞支持活性を有するAGM-s3-A9細胞で発現が高く、造血幹細胞支持活性を有さないAGM-s3-A7細胞で発現が低い、あるいは発現していない遺伝子として同定され、それを強発現させた細胞において造血幹細胞支持活性が増強または付与されたことが確認された遺伝子は以下のものである。なお、遺伝子の番号は便宜のために本発明者らにより付与されたものである。

#### 遺伝子SCR-2

GenBank登録番号AF185613のマウス遺伝子Mus musculus glypican-1 (GPC-1) と同一の遺伝子である。

マウス由来のものの塩基配列及びその塩基配列から推測されるアミノ酸配列を配列番号8に示す。また、アミノ酸配列のみを配列番号9に示す。

GPC-1のヒトアミノ酸配列はGenBank登録番号P35052に、ヒト塩基配列はGenBank登録番号AX020122でみることができる。ヒトの遺伝子でも同様の活性が検出されると考えてよい。

ヒト由来のものの塩基配列及びその塩基配列から推測されるアミノ酸配列を配列番号10に示す。また、アミノ酸配列のみを配列番号11に示す。

グリビカンは、細胞表面に存在する主要なヘパラン硫酸プロテオグリカンであり、システインに富む球状領域（cysteine rich globular domain）、短いグリコサミ

ノグリカン結合領域、グリコシルフォスファチジルイノシトール膜結合領域の特徴的な構造を有している。これまでにグリビカン-1からグリビカン-6までの6種類のファミリー遺伝子が発見されている。 (J Biol Chem 1999 Sep 17;274(38):2696-8-77, Glypican-6, a new member of the glypican family of cell surface heparan sulfate proteoglycans. Veugelers M, De Cat B, Ceulemans H, Bruystens AM, Coomans C, Durr J, Vermeesch J, Marynen P, David G)

GPC-1の生物学活性については、種々の報告がなされている。ヘパリン結合性の成長因子 (fibroblast growth factor 2 (FGF2) 、 heparin-binding EGF-like growth factor (HB-EGF) ) の増殖刺激活性を調節し、これらの増殖因子の刺激によるオートクライン増殖するガン細胞の増殖を促進する。 (J Clin Invest 1998 Nov 1;102(9):1662-73, The cell-surface heparan sulfate proteoglycan glypican-1 regulates growth factor action in pancreatic carcinoma cells and is over expressed in human pancreatic cancer. Kleeff J, Ishiwata T, Kumbasar A, Friess H, Buchler MW, Lander AD, Korc M)

HGF (hepatocyte growth factor) と結合し、抗原特異的なB細胞のサイトカインに対する反応性を促進する。細胞と接着分子との会合に関与し細胞の浸潤性に関与する (J Biol Chem 1998 Aug 28;273(35):22825-32, Heparan sulfate proteoglycans as adhesive and anti-invasive molecules. Syndecans and glypican have distinct functions. Liu W, Litwack ED, Stanley MJ, Langford JK, Lander AD, Sanderson RD) 。これらの知見は、GPC-1が種々の細胞刺激因子の活性発現に関与することを示している。また、グリビカンファミリー遺伝子の骨髓での発現を確認した報告もある ( Biochem J 1999 Nov 1;343 Pt 3:663-8, Expression of proteoglycan core proteins in human bone marrow stroma. Schofield KP, Gallagher JT, David G) 。しかし、これらの報告では、造血幹細胞あるいは造血前駆細胞へのGPC-1の作用について記載されていない。

### 遺伝子SCR-3

GenBank登録番号U15209、*Mus musculus* chemokine MMRP2 mRNA, U19482、*Mus m*

usculus C10-like chemokine mRNA、U49513、Mouse macrophage inflammatory protein-Igamma mRNAのマウス遺伝子と同一の遺伝子である。

マウス由来のものの塩基配列及びその塩基配列から推測されるアミノ酸配列を配列番号1-2に示す。また、アミノ酸配列のみを配列番号1-3に示す。

#### 遺伝子SCR-4

マウス由来のものの塩基配列及びその塩基配列から推測されるアミノ酸配列を配列番号1-4に示す。また、アミノ酸配列のみを配列番号1-5に示す。

この配列は、GenBank登録番号AF131820 Homo sapiens clone 25077 mRNA、sequenceと高い相同意が確認され、AF131820のマウスオーソログと判断される。また、この配列はW0 00/66784に記載されている。

ヒト由来のものの塩基配列及びその塩基配列から推測されるアミノ酸配列を配列番号1-6に示す。また、アミノ酸配列のみを配列番号1-7に示す。

#### 遺伝子SCR-5

マウス由来のものの塩基配列及びその塩基配列から推測されるアミノ酸配列を配列番号1-8に示す。また、アミノ酸配列のみを配列番号1-9に示す。

この配列は、GenBank登録番号AF325503 Homo sapiens esophageal cancer related gene 4 protein (ECRG4) mRNAと高い相同意が確認され、AF325503のマウスオーソログと判断される。

ヒト由来のものの塩基配列及びその塩基配列から推測されるアミノ酸配列を配列番号2-0に示す。また、アミノ酸配列のみを配列番号2-1に示す。

#### 遺伝子SCR-6

マウス由来のものの塩基配列及びその塩基配列から推測されるアミノ酸配列を配列番号2-2に示す。また、アミノ酸配列のみを配列番号2-3に示す。

#### 遺伝子SCR-7

マウス由来のものの塩基配列及びその塩基配列から推測されるアミノ酸配列を配列番号24に示す。また、アミノ酸配列のみを配列番号25に示す。

#### 遺伝子SCR-8

GenBank登録番号AB009673 *Mus musculus* mRNA for ADAM23、と同一の遺伝子である。

マウス由来のものの塩基配列及びその塩基配列から推測されるアミノ酸配列を配列番号26に示す。また、アミノ酸配列のみを配列番号27に示す。

この配列は、特開平11-155574に記載された配列と高い相同意を示し、従って、特開平11-155574に記載の配列はヒトオーソログ遺伝子と判断される。

ヒト由来のものの塩基配列及びその塩基配列から推測されるアミノ酸配列を配列番号28に示す。また、アミノ酸配列のみを配列番号29に示す。

これらの遺伝子の産物であるポリペプチドは、造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖または生存を支持する活性を有する。造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖または生存を支持する活性を有するとは、そのポリペプチドの存在下で、または、そのポリペプチドを発現するストローマ細胞の存在下で、造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖または生存が支持されることをいう。

従って、本発明は、上記ポリペプチド及びそれをコードするDNAの用途、及び、そのうちの新規なポリペプチド及びそれをコードするDNAを提供するものである。

上記のDNAによりコードされるポリペプチドである幹細胞増殖支持因子は、前記DNAを適当な宿主細胞に導入して形質転換細胞を調製し、該形質転換細胞中で前記DNAを発現させることによって製造することができる。

上記のDNAは、コードされる幹細胞増殖支持因子の活性が損なわれない限り、1若しくは数個のアミノ酸が置換、欠失または挿入された同因子をコードするものであってもよい。このような幹細胞増殖支持因子と実質的に同一のポリペプチドをコードするDNAは、例えば部位特異的変異法によって、特定の部位のアミノ酸残

基が置換、欠失、挿入、付加、または逆位を含むように塩基配列を改変することによって得られる。

上記のような変異を有するDNAを、適当な細胞で発現させ、発現産物の造血幹細胞支持活性を調べることにより、幹細胞増殖支持因子と実質的に同一の機能を有するポリペプチドをコードするDNAが得られる。また、変異を有する幹細胞増殖支持因子をコードするDNAまたはこれを保持する細胞から、例えば配列番号8、10、12、14、16、18、20、22、24、26または28記載の塩基配列を有するDNA、またはこれらのDNAから調製され得るプローブとストリンジエントな条件下でハイブリダイズし、かつ、造血幹細胞支持活性を有するタンパク質をコードするDNAを単離することによっても、幹細胞増殖支持因子と実質的に同一のタンパク質をコードするDNAが得られる。プローブの長さは通常には300～1000塩基である。ストリンジエントな条件としては、例えば、70%以上、好ましくは80%以上の相同性(DNASIS version 3.7(日立ソフトウェアエンジニアリング社製)のcompare機能のhomology searchを用いて特定することができる)を有するDNAがハイブリダイズし、それよりも相同性の低いDNA同士がハイブリダイズしない条件が挙げられる。前記ストリンジエントな条件としては、6×SSC、5×Denhardt、0.5% SDS、68°C(SSC; 3M NaCl、0.3M クエン酸ナトリウム)(50×Denhardt; 1% BSA、1% ポリビニルピロリドン、1% Ficoll 400)または6×SSC、5×Denhardt、0.5% SDS、50% ホルムアミド、42°Cなどが挙げられる。

上記のDNAを発現させるための宿主としては、エシェリヒア・コリ(Escherichia coli)、酵母等の微生物、動物または植物由来の培養細胞等が用いられる。宿主としては、哺乳動物由来の培養細胞が好ましい。尚、原核細胞を宿主とする場合は、シグナルペプチド部位を、 $\beta$ -ラクタマーゼ(bla)、アルカリフォスファターゼ(phoA)、外膜タンパク質A(ompA)等の原核細胞に適したリーダー配列に置換するか、成熟型タンパク質のN末端部位にメチオニン残基を付加した状態で発現させると良い。

上記のDNAの宿主細胞への導入は、例えば、宿主に対応したベクターに、上記のDNAを発現可能な形態で組み込み、得られる組換えベクターを宿主細胞に導入

することによって行うことができる。

哺乳動物由来の培養細胞としては、CHO細胞、293細胞、COS7細胞等が挙げられる。上記のDNAを発現させるためのプロモーターなどの発現調節配列は、上記遺伝子固有のものであっても、他の遺伝子由来のもの、例えばサイトメガロウイルスプロモーター、エロンゲーションファクター1プロモーター等であってもよい。

また、動物培養細胞用のベクターとしては、プラスミドベクター、レトロウイルスペクター、アデノウイルスペクター (Neering, S.J., Blood, 88:1147, 1996) 、ヘルペスウイルスペクター (Diloo, D., Blood, 89:119, 1997) 、HIVベクターなどが挙げられる。

組換えベクターを培養細胞に導入するには、培養細胞の形質転換に通常用いられている方法、例えば、リン酸カルシウム共沈殿法、リボソーム法、D E A E デキストラン法、エレクトロポレーション法、マイクロインジェクション法等が用いられる。

本発明のポリペプチドには、配列番号9、配列番号1-1、配列番号1-3、配列番号1-5、配列番号1-7、配列番号1-9、配列番号2-1、配列番号2-3、配列番号2-5、配列番号2-7、または、配列番号2-9に示すアミノ酸配列を有するポリペプチドに加えて、このアミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸が置換、欠失または挿入されたアミノ酸配列を有し、かつ、造血幹細胞支持活性を有するポリペプチドも含まれる。すなわち、マウスおよびヒト由来の幹細胞増殖支持因子にアミノ酸が置換、欠失または挿入等の改変を加えたものであっても、幹細胞増殖支持因子の本質的な機能を保持するものは、幹細胞増殖支持因子と実質的に同等なものとみなすことができる。

このような修飾された幹細胞増殖支持因子は、幹細胞増殖支持因子をコードするDNAまたは該DNAを保持する宿主を変異剤で処理するか、または該DNAに部位特異的変異法によって特定の部位のアミノ酸が置換、欠失または挿入されるように変異を導入することによって、取得することができる。得られた変異ポリペプチドが、造血幹細胞支持活性を保持することは、後記実施例に示すように、変異型ポリペプチドの存在下で培養した造血幹細胞を、放射線照射したマウスへ移植し、移

植後の末梢血液像を経時的に調べることによって、確認することができる。

また、アミノ酸の欠失については、造血幹細胞支持活性を有する限り、N末端および／またはC末端のアミノ酸配列を欠失したフラグメントであってもよい。N末端および／またはC末端のアミノ酸配列を欠失したフラグメントは通常の方法により得ることができ、フラグメントが、造血幹細胞支持活性を保持することは、変異ポリペプチドについて説明したのと同様にして確認することができる。特に、アミノ酸配列にシグナル配列や膜貫通領域と予測される部分がある場合には、それを指標にして造血幹細胞支持活性を有するフラグメントを予測できる。例えば、ヒトSCR-8のコードするタンパク質は、タイプIの1回膜貫通型のタンパク質であり、膜貫通領域を欠失した可溶性タンパク質であっても造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖または生存を支持する活性を有することが予測される。膜貫通領域は、アミノ酸配列に基づいて公知のプログラムにより予測できる。例えば、PSORT IIと呼ばれるプログラム（インターネットにより入手可能、URL: <http://psort.nibb.ac.jp/index.html>）により予測した場合、膜貫通領域は配列番号29において790～806位のアミノ酸であり、789位までのフラグメントでも造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖または生存を支持する活性を有することが予測される。

上記DNAは、本発明によってそれらの塩基配列が明らかにされたので、それらの配列に基づいて作製したオリゴヌクレオチドをプライマーとするPCRによって、または該配列に基づいて作製したオリゴヌクレオチドをプローブとするハイブリダイゼーションによって、マウスまたはヒトのcDNAライブラリーもしくは染色体DNAライブラリーから、単離することによっても取得することができる。

本発明のDNAは、本発明を完成するに際しては、後述するように、造血幹細胞支持活性を有するマウスストローマ細胞株であるAGM-s3-A9細胞のcDNAライブラリーから、SBH法(Sequencing By Hybridization) (Drmanac, S., Nat. Biotechnol., 16, 54, 1998; Drmanac, R., Methods. Enzymol., 303, 165, 1999)によって単離した。造血幹細胞支持活性を有するマウスストローマ細胞株は、W099/03980号記載の方法によって、あるいは理化学研究所細胞開発銀行またはATCCより取得することができる。

以下に、SBH法の概要について述べる。配列の異なる8または9塩基よりなるプローブを準備する。標的遺伝子の中にプローブと一致する配列が存在すれば、そのプローブは遺伝子とハイブリダイズすることができ、ハイブリダイズしたことはプローブをR Iあるいは蛍光色素でラベルしておくことで、容易に確認できる。ライブラリのクローンを一つずつピックアップしてメンプランにプロットし、上記のプローブと繰り返しハイブリダイゼーションを行い、各クローンがどのプローブとハイブリダイズしたかを検出する。遺伝子ごとにハイブリダイズするプローブの組み合わせは決まっているので、同一の遺伝子にハイブリダイズするプローブの組み合わせは一定である。すなわち、ハイブリダイズするプローブの組み合わせから同一の遺伝子を一つのグループ（クラスター）として同定することができる。cDNAライブラリの個々のクローンを、ハイブリダイズするプローブのパターンにより分類、計数することにより、個々の遺伝子のクローンがライブラリ中に何個含まれるか知ることができる。このようにして、各遺伝子のライブラリ中の発現頻度を同定することが可能である。

造血幹細胞支持活性を有する細胞、および同活性を有しない細胞からcDNAライブラリを作製し、クラスタリングを行い、各細胞間での遺伝子発現状況を比較し、支持細胞で特異的に発現が亢進している遺伝子を選択する。これらの遺伝子についてさらに、前述の各細胞での発現状況を、ノーザン解析によりさらに検討し、造血幹細胞支持活性を有する細胞に発現が高い遺伝子を取得する。

上記の遺伝子は、上記の過程を経て取得された支持細胞に特異的に発現が高い遺伝子であり、AGM-s3-A9細胞由来cDNAライブラリより、全長遺伝子をクローン化した。

さらに、遺伝子産物の造血支持能について評価するため遺伝子のORFを含む遺伝子断片をストローマ細胞にレトロウイルスベクターを用いて遺伝子導入し、同細胞の造血幹細胞造支持活性の変化を検討した。実際には、遺伝子を導入していないストローマ細胞またはコントロールベクターを導入したストローマ細胞と遺伝子を導入したストローマ細胞のそれと、マウス造血幹細胞を共培養したのち、放射線照射マウスに造血細胞を移植し、共培養した造血細胞の生着について検討した。

その結果、遺伝子を導入した細胞で共培養した造血幹細胞を移植したマウスでは、遺伝子を導入していない細胞と比較して、移植後のキメリズムが上昇していた。この結果は、遺伝子を発現させたストローマ細胞では、造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖、生存を支持する活性が増強されたまたは付与されたことを示す。この結果から、上記の遺伝子の発現は、ストローマ細胞において上記活性を増強または付与する作用を持つことが明らかとなった。したがい、上記の遺伝子の産物は造血幹細胞または造血前駆細胞に作用し、その生存あるいは増殖を支持する活性を有する、あるいは、ストローマ細胞に作用し造血幹細胞支持活性を増強または付与する活性を有することが明らかになった。

本発明のポリペプチドは、造血幹細胞または造血前駆細胞に作用し、その生存あるいは増殖を支持する活性を有するものである場合、すなわち、その存在下で造血幹細胞または造血前駆細胞を培養したときに造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖または生存を支持する活性を示す場合には、ヒト造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖または支持のための医薬として用いることができる。当該医薬組成物は、ヒトの造血幹細胞または造血前駆細胞の生体外での増殖または生存の支持に利用することができる。末梢血幹細胞移植、臍帯血幹細胞移植などの造血幹細胞移植療法では、移植する造血幹細胞数が十分量取得できず移植が実施できないときがある。十分量の幹細胞が取得できない場合でも、該ポリペプチドを利用することで造血幹細胞数を試験管内で増幅し、必要量の造血幹細胞を取得し移植することが可能である。すなわち、該ポリペプチドを培養液に含む様な培地で造血幹細胞を培養することで、造血幹細胞を分化させずに増幅することが可能である。その際に、種々のサイトカインを添加し、造血幹細胞をより効率的に増幅することも可能と考えられる。

本発明のポリペプチドを含む培地で造血幹細胞または造血前駆細胞を培養する際、用いる造血幹細胞または造血前駆細胞は、これらのいずれか一方が単離されたものであってもよく、これらの両方であってもよい。また、造血幹細胞または造血前駆細胞の少なくとも一方を含み、さらに他の造血細胞を含むのであってもよい。さらには、造血幹細胞または造血前駆細胞を含む細胞群から分画された造血幹細胞または造血前駆細胞を含む分画であってもよい。

本発明の方法における造血幹細胞および造血前駆細胞の採取源としては、ヒトおよびマウス等の哺乳動物の胎児肝臓、骨髓、胎児骨髓、末梢血、サイトカインおよび／または抗癌剤の投与によって幹細胞を動員した末梢血、および臍帯血等が挙げられ、造血幹細胞を含む組織であればいずれであってもよい。

造血幹細胞または造血前駆細胞を培養するにあたっては、いわゆる培養用のシャーレ、フラスコを用いた培養法が可能であるが、培地組成、pHなどを機械的に制御し、高密度での培養が可能なバイオリアクターによって、その培養系を改善することもできる(Schwartz, Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A., 88:6760, 1991; Koller, M.R., Bio/Technology, 11:358, 1993; Koller, M.R., Blood, 82: 378, 1993; Palsson, B.O., Bio/Technology, 11:368, 1993)。

本発明のポリペプチドをコードするDNAを発現するストローマ細胞は、DNAの発現に関して記載したようにして得ることができる。

ストローマ細胞と造血細胞の共培養は、骨髓を採取したのち、そのまま培養を行うことで可能である。また、骨髓を採取した上で、ストローマ細胞、造血細胞、その他の細胞群などを分離し、骨髓を採取した個人以外のストローマ細胞、造血細胞の組み合わせで共培養を実施することも可能である。また、ストローマ細胞のみを培養し増殖させた後に造血細胞を添加し共培養を実施することも可能である。その際に、ストローマ細胞を、細胞刺激因子を培養系に添加することによって、より有効に増殖、生存を支持することができる。このような細胞刺激因子として、具体的には、SCF(幹細胞因子)、IL-3(インターロイキン-3)、GM-CSF(顆粒球マクロファージ・コロニー刺激因子(granulocyte/macrophage colony-stimulating factor))、IL-6(インターロイキン-6)、TPO(トロンボポエチン)、G-CSF(顆粒球コロニー刺激因子(granulocyte colony-stimulating factor))、TGF- $\beta$ (トランスフォーミング成長因子- $\beta$ )、MIP-1 $\alpha$ (Davatidis, G., J. Exp. Med. 167:1939, 1988)、などのサイトカインに代表される増殖因子、EPO(エリスロポエチン)のような造血ホルモン、ケモカイン、Wnt遺伝子産物、ノックチリガンドのような分化増殖調節因子、発生調節因子などがあげられる。

また、本発明のポリペプチドが、造血幹細胞または造血前駆細胞に作用し、その

生存あるいは増殖を支持する活性を有するものである場合、すなわち、その存在下で造血幹細胞または造血前駆細胞を培養したときに造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖または生存を支持する活性を示す場合には、ストローマ細胞の非存在下で本発明のポリペプチドの組換え体を単独で、あるいは細胞刺激因子の存在下に造血幹細胞または造血前駆細胞に作用させることで、造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖、生存を維持することが可能である。この際使用される細胞刺激因子としては、上記に記載してある細胞刺激因子などが挙げられる。

培養に用いる培地としては、造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖、生存が害されない限り特に制限されないが、例えばMEM- $\alpha$ 培地 (GIBCO BRL)、SF-02培地 (三光純薬)、Opti-MEM培地 (GIBCO BRL)、IMDM培地 (GIBCO BRL)、PRMI1640培地 (GIBCO BRL)、が好ましいものとして挙げられる。培養温度は、通常25~39°C、好ましくは33~39°Cである。また、培地に添加する物質としては、ウシ胎児血清、ヒト血清、ウマ血清、インシュリン、トランスフェリン、ラクトフェリン、エタノールアミン、亜セレン酸ナトリウム、モノチオグリセロール、2-メルカプトエタノール、ウシ血清アルブミン、ビルビン酸ナトリウム、ポリエチレングリコール、各種ビタミン、各種アミノ酸、CO<sub>2</sub>は、通常、4~6%であり、5%が好ましい。

造血幹細胞は、全ての造血系の分化系列へ分化が可能なので、試験管内で造血幹細胞を増幅後種々の細胞種に分化させ移植することが可能である。例えば、赤血球が必要であれば、患者の幹細胞を培養し増幅した後、EPOなどの赤血球分化誘導を促進する因子を利用して赤血球を主成分とする造血細胞を人為的に產生することが可能である。

本発明のポリペプチドを用いて培養された造血幹細胞または造血前駆細胞は、従来の骨髄移植や臍帯血移植に代わる血液細胞移植用の移植片として用いることができる。造血幹細胞の移植は、移植片が半永久的に生着させられることから、従来の血液細胞移植治療を改善することができる。

造血幹細胞の移植は、白血病に対する全身X線療法や高度化学療法を行う際に、これらの治療と組み合わせる他、種々の疾患に用いることができる。例えば、固形癌患者の化学療法、放射線療法等の骨髄抑制が副作用として生じる治療を実施する

際に、施術前に骨髓を採取しておき、造血幹細胞、造血前駆細胞を試験管内で増幅し、施術後に患者に戻すことで、副作用による造血系の障害から早期に回復させることができ、より強力な化学療法を行えるようになり、化学療法の治療効果を改善する事ができる。また、本発明により得られる造血幹細胞ならびに造血前駆細胞を各種血液細胞に分化させ、それらを患者の体内に移入することにより、各種血液細胞の低形成により不全な状況を呈している患者の改善を図ることができる。また、再生不良性貧血などの貧血を呈する骨髓低形成に起因する造血不全症を改善することができる。その他、本発明の方法による造血幹細胞の移植が有効な疾患としては、慢性肉芽腫症、重複免疫不全症候群、無ガンマグロブリン血症、Wiskott-Aldrich症候群、後天性免疫不全症候群（AIDS）等の免疫不全症候群、サラセミア、酵素欠損による溶血性貧血、鐸状赤血球症等の先天性貧血、Gaucher病、ムコ多糖症等のリソゾーム蓄積症、副腎白質変性症、各種の癌または腫瘍等が挙げられる。

造血幹細胞の移植は、用いる細胞以外は、従来行われている骨髄移植や臍帯血移植と同様に行えばよい。

上記のような造血幹細胞移植に用いられる可能性のある造血幹細胞の由来は、骨髓に限られず、前述したような胎児肝臓、胎児骨髓、末梢血、サイトカインおよび／または抗癌剤の投与によって幹細胞を動員した末梢血、および臍帯血等を用いることができる。

移植片は、本発明の方法によって產生した造血幹細胞および造血前駆細胞の他に、緩衝液等を含む組成物としてもよい。

また、本発明により產生される造血幹細胞または造血前駆細胞は、*ex vivo*の遺伝子治療に用いることができる。造血幹細胞に対する遺伝子治療は、幹細胞が静止期にあり染色体との組換え率が低いこと、また、培養中に幹細胞が分化してしまうこと等から困難であったが、本発明を利用することによって、幹細胞を分化させずに増幅でき、遺伝子導入効率に大幅な改善が見込める。この遺伝子治療は、造血幹細胞または造血前駆細胞に外来遺伝子（治療用遺伝子）を導入し、得られる遺伝子導入細胞を用いて行われる。導入される外来遺伝子は、疾患によって適宜選択される。血液細胞を標的細胞とする遺伝子治療の対象となる疾患としては、慢性肉芽腫

症、重複免疫不全症候群、無ガンマグロブリン血症、Wiskott-Aldrich症候群、後天性免疫不全症候群（AIDS）等の免疫不全症候群、サラセミア、酵素欠損による溶血性貧血、鎌状赤血球症等の先天性貧血、Gaucher病、ムコ多糖症等のリソゾーム蓄積症、副腎白質変性症、各種の癌または腫瘍等が挙げられる。

造血幹細胞または造血前駆細胞に治療用遺伝子を導入するには、通常動物細胞の遺伝子導入に用いられる方法、例えば、モロニーマウス白血病ウイルス等のレトロウイルスベクター、アデノウイルスベクター、アデノ随伴ウイルス（AAV）ベクター、単純ヘルペスウイルスベクター、HIVベクター等のウイルス由来の遺伝子治療に用いられる動物細胞用ベクター（遺伝子治療用ベクターについては、Verma, I.M., *Nature*, 389:239, 1997 参照）を用いる方法、リン酸カルシウム共沈法、DEAE-デキストラン法、エレクトロポレーション法、リポソーム法、リポフェクション法、マイクロインジェクション法等を用いることができる。これらの中では、標的細胞の染色体DNAに組み込まれて恒久的に遺伝子の発現が期待できるという点から、レトロウイルスベクター、アデノ随伴ウイルスベクターまたはHIVベクターが好ましい。

例えば、アデノ随伴ウイルス（AAV）ベクターは、次のようにして作製することができる。まず、野生型アデノ随伴ウイルスDNAの両端のITR（inverted terminal repeat）の間に治療用遺伝子を挿入したベクタープラスミドと、ウイルスタンパク質を補うためのヘルバープラスミドを293細胞にトランスフェクションする。続いでヘルバーウィルスのアデノウイルスを感染させると、AAVベクターを含むウイルス粒子が産生される。あるいは、アデノウイルスの代わりに、ヘルバー機能を担うアデノウイルス遺伝子を発現するプラスミドをトランスフェクションしてもよい。次に、得られるウイルス粒子を造血幹細胞または造血前駆細胞に感染させる。ベクターDNAにおいて、目的遺伝子の上流には、適当なプロモーター、エンハンサー、インシュレーター等を挿入し、これらによって遺伝子の発現を調節することが好ましい。さらに、治療用遺伝子に加えて薬剤耐性遺伝子等のマーカー遺伝子を用いると、治療用遺伝子が導入された細胞の選択が容易となる。治療用遺伝子は、センス遺伝子であってもアンチセンス遺伝子であってもよい。

遺伝子治療用組成物は、本発明の方法によって產生された造血幹細胞および造血前駆細胞の他に、緩衝液、新規の活性物質等を含む組成物としてもよい。

また、本発明のDNAを常法により発現ベクターに組み込み、遺伝子治療用のベクターを製造することができる。当該遺伝子治療用ベクターは、ヒトの造血幹細胞の維持・増殖を必要とする疾病的治療に有用である。すなわち、造血幹細胞に当遺伝子治療ベクターを導入し、in vitroで培養することで造血幹細胞、造血前駆細胞を優位に増殖させることが可能となる。このように処理した造血幹細胞を体内に戻すことで、体内で造血幹細胞を増殖させることが可能になる。また、当遺伝子治療ベクターを体内に移入することで体内での造血幹細胞の増殖を促進することが可能になる。あるいは、患者から取得した骨髄細胞をそのまま培養し当遺伝子治療ベクターを移入することで培養系の中で造血幹細胞、前駆細胞を増殖させることが可能になる。あるいは、骨髄よりストローマ細胞を分離培養し得られるストローマ細胞、間質幹細胞 (mesenchymal stem cell) に当遺伝子治療ベクターを移入することで、造血幹細胞支持能を付与または上昇させることが可能である。

また、実施例に示すとおり造血幹細胞支持能のないストローマ細胞に本発明のDNAを導入することにより造血幹細胞支持能を付与することが可能になることから、ヒトあるいはマウス由来のストローマ細胞に遺伝子移入することで造血幹細胞支持能を有するストローマ細胞を作製することができる。本発明のDNAを発現するストローマ細胞と造血幹細胞あるいは造血前駆細胞を共培養することで造血幹細胞あるいは造血前駆細胞を維持・増殖させ種々の治療に役立てることが可能である。

本発明のDNAがストローマ細胞に発現されることで、造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖、生存が維持されることから、本発明のDNAの発現を指標にしてストローマ細胞の造血幹細胞支持能を評価することが可能である。その方法としては、本発明のDNAによりコードされるポリペプチドに対する抗体を用いてストローマ細胞での発現を確認することが可能である。また、塩基配列からPCRプライマーを作製し、目的ストローマ細胞からRNAを調製し、RT-PCRを実施することで本発明のDNAの発現を確認することも可能である。上記抗体については後述する。

また、本発明の医薬組成物は、ヒトに投与することもできる。本発明のポリペプチドを医療上許容される希釈剤、安定化剤、担体および／またはその他の添加物と混合することにより、ヒトの造血幹細胞または造血前駆細胞に対する増殖または支持作用を有する医薬組成物を製造することができる。その際、本発明のポリペプチドは、タンパク質の生体内での安定性を高める修飾剤によって修飾されていてもよい。このような修飾剤としては、ポリエチレングリコール(PEG)、デキストラン、ポリ(N-ビニルーピロリドン)、ポリプロピレングリコールホモポリマー、ポリプロピレンオキシド/エチレンオキシドのコポリマー、ポリオキシエチル化ポリオール、ポリビニルアルコール等が挙げられる。PEGによるタンパク質の修飾は、例えば、PEGの活性エステル誘導体とタンパク質を反応させる方法、あるいは、PEGの末端アルデヒド誘導体とタンパク質とを還元剤の存在下で反応させる方法等によって行うことができる。このようなタンパク質の修飾については、特表平10-510980号に詳細に開示されている。

本発明の医薬組成物をヒトに投与することによって、抗癌剤の副作用による造血抑制からの回復、骨髓移植、末梢血幹細胞移植、臍帯血移植時の造血細胞の早期回復、再生不良性貧血(AA)、骨髓異形成症候群(MDS)などの汎血球減少症の造血機能回復が期待できる。

本発明の抗体は、上記本発明のポリペプチドと特異的に反応する。本発明の抗体は、該ポリペプチドと特異的に反応し得るものであればモノクローナル抗体でもポリクローナル抗体でもよい。

本発明の抗体は、常法に従って調製することができ、例えば、アジュバントとともに抗原で動物を一回あるいは数週間をはさんで複数回追加免疫する生体内(in vivo)の方法、免疫細胞を分離して適当な培養系で感作させる生体外(in vitro)の方法のいずれかの方法によって調製し得る。本発明の抗体を產生し得る免疫細胞としては、例えば脾細胞、扁桃腺細胞、リンパ節細胞などがあげられる。

抗原として使用するポリペプチドは、必ずしも上記の本発明のポリペプチド全体を使用する必要はなく、該ポリペプチドの一部分を抗原として使用してもよい。抗原が短いペプチド、特にアミノ酸20残基前後の場合は、キーホールリンベットヘモ

シアニンや牛血清アルブミンのような抗原性の高いキャリアタンパク質と化学修飾などによって結合させて用いるか、あるいは、キャリアタンパク質のかわりに分枝骨格を持つペプチド、例えばリジンコア MAPペプチド (Posnett et al., J. Biol. Chem. 263, 1719-1725, 1988; Lu et al., Mol. Immunol. 28, 623-630, 1991; Briand et al., J. Immunol. Methods 156, 255-265, 1992) と共有結合させて用いる。

アジュバントは、例えば、フロイントの完全、または不完全アジュバントや水酸化アルミニウムゲルなどが用いられる。抗原を投与する動物としては例えばマウス、ラット、ウサギ、ヒツジ、ヤギ、ニワトリ、ウシ、ウマ、モルモット、ハムスターなどが用いられる。ポリクローナル抗体はこれらの動物から血液を採取して血清を分離し、硫酸沈澱および陰イオン交換クロマトグラフィーまたはプロテインAまたはGクロマトグラフィーで免疫グロブリンを精製して得られる。

ニワトリの場合、卵より抗体を精製することもできる。モノクローナル抗体は、例えば *in vitro* で感作した、あるいは上記動物の免疫細胞を培養可能な親細胞と融合させて作製したハイブリドーマ (hybridoma) 細胞の培養上清から、もしくは同ハイブリドーマ細胞を動物腹腔内接種して得られる腹水から精製して調製することができる。親細胞としては、例えば X63、NS-1、P3U1、X63.653、SP2/0、Y3、SK-0-007、GM1500、UC729-6、HM2/0、NP4-1細胞などがあげられる。また、*in vitro* で感作した、あるいは上記動物の免疫細胞にEBウイルスなどの適当なウイルスを感染させ、得られる不死化抗体産生細胞を培養することにより調製することもできる。

これら細胞工学的手法とは別に、*in vitro* で感作した、あるいは上記動物の免疫細胞から抗体遺伝子をPCR (polymerase chain reaction) 反応によって増幅して取り出し、大腸菌等の微生物に導入して抗体を産生させたり、抗体を融合タンパク質としてファージ表面に発現させるなど、遺伝子工学的手法により得ることもできる。

本発明の抗体を用いて、生体におけるポリペプチドを定量する事により、ポリペプチドの各種疾患の病態との係わりを解明する事が出来、さらに同抗体は疾患の診断ひいては治療、且つポリペプチドの効率的なアフィニティー精製に資する事が出来る。

本発明により、造血幹細胞または造血前駆細胞に作用し、その生存あるいは増殖を支持する活性を有する、あるいは、ストローマ細胞に作用し造血幹細胞支持活性を付与する活性を有するポリペプチド、およびそれをコードするDNAが提供される。本発明のポリペプチドを用いることにより、造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖、生存を効率的に維持することが可能になる。

### 発明を実施するための最良の形態

以下、実施例により本発明をさらに具体的に説明する。

#### 実施例1 造血幹細胞支持細胞に特異的に発現する遺伝子の断片の取得

##### (I) マウスAGM由来ストローマ細胞株の取得

###### (1) マウス胎児のAGM領域の分離

C3H/HeNSLeマウス（日本エスエルシー株式会社より購入）の雌雄をSPF(speci-  
fic pathogen-free)の環境のもとで飼育した。1ないし2匹の雌を1匹の雄と一晩、  
同じケージにいれ、翌朝、臍栓の存在が確認された雌マウスを新しいケージに移し  
て飼育した。臍栓の確認された日を懷胎0、5日とした。懷胎10、5日目のマウ  
スを頸椎脱臼により死に至らしめた後、胎児を摘出した。AGMの分離は、Godin  
等(Godin, I., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 92:773-777, 1995)、Medvinsky  
等(Medvinsky, A.L., Blood, 87:557-565, 1996)の方法に準拠して実施した。胎児  
が浸る程度にPBS(−)（リン酸緩衝生理食塩水）（日本製薬製）を入れた培養皿  
に胎児を入れ、実体顕微鏡下で、AGM領域を他の領域を含まないように慎重に切  
除し、新たな24ウェルの培養皿(Nunc社)に移した。

###### (2) AGM由来細胞株の樹立

24ウェルの培養皿(Nunc社)に移したAGM領域に、10% FCS(Hyclone社)を  
含むMEM培地(Sigma社)を一滴加え、一晩、培養器中で培養した。培養は、10% FC  
S(Hyclone社)を含むMEM培地(Sigma社)、37°C、5% CO<sub>2</sub>、湿度100%の条件下で行  
った。一晩の培養で、AGM領域の細胞が培養皿に付着したところで、さらに、2

mlの10% FCSを含むMEM培地を添加した。その後、培養を継続することにより、AGM領域組織片の周辺には次第にストローマ細胞が出現した。さらに1週間培養を継続した後、接着細胞をトリプシン処理（0.05% トリプシン, 0.53mM EDTA(Gibco BRL社)を含むPBS中、37°C、3～5分）によって剥がした後、培地で2回洗浄し、6ウェル培養皿（Nunc社）に播種した。翌日、培養皿に付着しなかった細胞を培地とともに除去し、新たに新鮮な培地を添加した。6ウェル培養皿に移してから2週間後に、内在する造血細胞を除去するため900 Radのγ線を照射した。この培養系から限界希釈法で直接細胞のクローニングを行ったが、細胞の増殖は認められず、クローニングすることはできなかった。そこで、一つのウェルに播種する細胞数を増やし、少ない細胞からの増殖に耐えられるように細胞を馴化してから限界希釈法によるクローニングを実施することとした。

すなわち、上記と同様にして、AGMを摘出して培養を行い、γ線を照射してから2週間になる培養系をトリプシン処理（0.05% トリプシン, 0.53mM EDTAを含むPBS中、37°C、3～5分）して細胞を懸濁し、50～100細胞/ウェルとなるように24-ウェル培養皿に播種した。3週間培養を継続した後、限界希釈法により、0.3細胞/ウェルとなるように96ウェル培養皿（Nunc社）に細胞を播種し、一個の細胞のみが播種されているウェルから増殖してきた細胞を拡大培養した。その結果、線維芽細胞様の細胞と、敷石状の細胞が得られ、クローニングに成功した。

ヒト臍帯血由来CD34陽性細胞分画を、線維芽細胞様の細胞と二週間共培養し、培養系中のコロニー形成細胞の有無について検討したところ、線維芽細胞様の細胞との共培養系中にはコロニー形成細胞が認められなかった。そこで、敷石状の形態を示す細胞7クローンについて同様の検討を行い、ヒト造血幹細胞増殖支持活性を有するクローンが3つ得られた。これらをAGM-s1、AGM-s2およびAGM-s3と命名した。

#### （II）マウス骨髄からの造血幹細胞の調製

C57BL/6-Ly5.1 pep (8～10週齢、雄) (筑波大学 中内啓光教授より供与) の大腿骨内の骨髄を採取し、PBSに懸濁した。定法に従い（高津聖志、免疫研究の基礎技術、羊土社1995）、マウス骨髄単核球細胞分画を比重遠心法により濃縮した後、染色バッファー（5% FCS, 0.05% NaN<sub>3</sub>を含むPBS）に懸濁し、以下の方法で造血幹細

胞分画を取得した (Osawa, M. et al., Science 273:242-245, 1996)。

FITC結合CD34抗体、フィコエリスリン結合Sca-1抗体、アロフィコシアニンc-Kit (全てPharmingen社製)、および、分化マーカー(Lin)として以下の6種類のビオチン化した分化抗原特異的な抗体、CD45R, CD4, CD8, Gr-1, Ter119, CD11c (全てPharmingen社製)を、骨髄単核球細胞懸濁液に添加し、氷中で20分間放置し反応させた。染色バッファーで2回洗浄した後に、セルソーター (FACS Vantage, Becton Dickinson社)により、CD34陰性、Sca-1陽性、c-Kit陽性、Lin陰性細胞を分取した。

(III) マウストローマ細胞株のサブクローニング、および各種細胞株の造血幹細胞支持活性の評価

(1) マウストローマ細胞株のサブクローニング

1) AGM-s3サブクローンの分離

非動化10%FCS (ウシ胎児血清、Hyclone社) を含むMEM $\alpha$ 培地 (GIBCO BRL社) で継代培養をしているAGM由来ストローマ細胞株AGM-s3を5% FCS含有PBS (PBS-FCS) に懸濁し、セルソーター (FACS Vantage; Becton Dickinson) を用いて1細胞/ウェルで96ウェル培養皿 (Falcon社) にクローンソーティングを行なった。96ウェル中、細胞が増殖してきたウェルについて拡大培養し、13種のAGM-s3のサブクローンを得た。これらのAGM-s3サブクローンについて造血細胞の支持能を検討した。

2) ヒト臍帯血CD34陽性幹細胞の分離

ヒト臍帯血は、キリンビール医薬探索研究所倫理委員会の基準に準拠し、正常分娩時に採取した。臍帯血は凝固しないようにヘパリンを添加したシリジンを用いて採取した。ヘパリン処理臍帯血をLymphoprep(NYCOMED PHARMA)に重層し、比重遠心 (400G、室温、30分間) により単核細胞を分離した。単核細胞に混入した赤血球は、塩化アンモニウム緩衝液 (0.83% NH<sub>4</sub>Cl-Tris HCl 20mM, pH6.8) で室温2分間処理して溶血させた。PBS-FCSで単核細胞を洗浄後、10mgのヒトIgGを添加し、氷冷下、10分間放置した後、さらに細胞をPBS-FCSで洗浄し、ヒト分化血球に特異的な抗原に対するビオチン化抗体すなわち、CD2、CD11c(ATCCハイブリドーマ入手し精製)、CD19(Pharmingen社)、CD15、CD41(Leinco Technologies, Inc.社)、Glycop

horin A (コスマバイオ社) に対する抗体を添加し氷冷下、20分間放置した。細胞をPBS-FCSで洗浄後、5% FCS、10mM EDTA、0.05%  $\text{NaN}_3$ を含むPBS (PBS-FCS-EDTA- $\text{NaN}_3$ ) 1mlに懸濁し、ストレプトアビシン結合磁性体ビーズ (BioMag, PerSeptive Diagnostics社) を添加して氷冷下、40分間放置した。分化抗原を発現した分化血球をマグネチックセパレーター (Dynal MPC-1, Dynal社) を用いて除去し、残りの分化血球抗原陰性分画にFITC標識抗CD34抗体 (Immunotech S.A., Marseilles, France) を添加し、氷冷下、20分間のインキュベーションの後、セルソーターによりCD34陽性分画を回収した。この細胞集団をヒト臍帯血由来造血幹細胞集団とした。

### 3) ヒト造血幹細胞とAGM-s3サブクローニとの共培養

13種のAGM-s3のサブクローニおよびマウス骨髓由来ストローマ細胞株MS-5のそれぞれを、 $1 \times 10^4$ /ウェルで24ウェル培養皿 (Falcon社) に播種し、10% FCSを含むMEM $\alpha$ 培地1mlで培養し、細胞がウェルの底一面を覆うまで増殖させた。上記ストローマ細胞上にCD34陽性ヒト臍帯血由来造血幹細胞を500個/ウェルで重層し、1mlの10% FCSを含むMEM $\alpha$ 培地にて共培養した。共培養開始1週間後に同様の培地1mlをさらに添加した。共培養開始2週間目にトリプシン処理 (0.05% トリプシン、0.5mM EDTAを含むPBS (GIBCO BRL社) で37°C、2～5分間放置) によりストローマ細胞とヒト血液細胞を同時に培養皿より剥がし、造血幹細胞支持活性をコロニーアッセイにより評価した。

### 4) コロニーアッセイによる造血幹細胞および造血前駆細胞の増殖状況の評価

上記共培養系にて増殖した細胞は、適宜稀釀して1mlメチルセルロース培養系に付し、解析を行なった。メチルセルロース培養系は、MethoCult H4230 (Stem Cell Technologies Inc.社) に10ng/ml ヒトSCF、ヒトIL-3、ヒトIL-6、ヒトG-CSF、ヒトTPO、2 IU/ml EPOを添加し、6ウェル培養皿 (Falcon社) にて実施した。上記で用いた各種造血因子は、いずれもリコンビナント体であり、純粋なものである。2週間の培養の後、出現してきたコロニーを顕微鏡下で観察し、CFU-GM(granulocyte-macrophage colony-forming unit)、BFU-E(erythroid burst forming unit)、および、CFU-E mix(erythrocyte mixed colony-forming unit)の数を計測した。

図1にCD34陽性造血幹細胞とAGM-s3サブクローニA9、A7またはD11との2週間共培

養の結果を示す。13種のAGM-s3サブクローンのうちA9とD11の2クローンが、CFU-GM、BFU-E、および、CFU-E mixのすべての分化系列の細胞の増殖を支持した。特に赤血球系の前駆細胞であるBFU-E、および、CFU-E mixを維持することは通常困難であるが、A9またはD11細胞との共培養系ではその増殖が認められた。この結果は、A9またはD11細胞との共培養により造血幹細胞あるいは造血前駆細胞が増殖あるいは維持されることにより、常に赤血球系の前駆細胞が出現してきていることを示している。一方、A7は、その細胞の形態がA9に似ているが、CFU-GM、BFU-E、および、CFU-E mixを支持しなかった。

#### 5) A9とマウス胎仔由来ストローマ細胞株OP9のヒト造血幹細胞支持活性の比較

上記手法を用いて、さらに、AGM-s3サブクローンA9、A7とマウス胎仔由来ストローマ細胞株OP9 (RCB1124、理化学研究所 細胞開発銀行) のCD34陽性ヒト臍帯血由来造血幹細胞に対する幹細胞支持能の比較をCFU-GM、BFU-E、CFU-E、および、CFU-E mixを指標に、上記の評価系を用いて実施した。図2に2週間共培養の結果を示す。A7細胞培養系では、CFU-GM、BFU-E、および、CFU-Eの有意な減少が確認され、CFU-E mixは完全に消失していた。一方、OP9細胞ではA9には劣るが、CFU-E mixを含む各種血球前駆細胞が維持されており、造血幹細胞支持能を有することが明らかとなった。

#### (2) 各種細胞株の造血幹細胞支持活性の評価

前記の各ストローマ細胞株 (AGM-s3-A9、AGM-s3-A7、AGM-s3-G1) 、3T3Swiss (ATCC) 、OP9およびNIH3T3 (ATCC) を $5 \times 10^4$ 個ずつ24ウェルの培養皿 (Falcon社) に播種し、非動化10% FCS (ウシ胎児血清、Hyclone社製) を含むMEM $\alpha$ 培地 (GIBCO BRL社製) にて1日培養し、細胞が培養皿の底一面を覆うまで増殖させた。その後、1mlの新たな培地に交換し、上記(1)で得たマウス造血幹細胞 (C57BL/6-Ly5.1由来) 30個をこれらの細胞上に重層し、培養を開始した。

培養7日目に、細胞をトリプシン処理 (0.05% トリプシン、0.5mM EDTAを含むPBS (GIBCO BRL社) で37°C、2~5分間放置) し、培養皿の全ての細胞を剥がし回収した。回収した各全細胞を、それぞれ20万個の全骨髄細胞 (C57BL/6-Ly5.2マウス由来、チャールスリバー社) と共に、8.56yのX線を照射したC57BL/6-Ly5.2 (チ

ヤールスリバー社、8週齢、雄）マウスに尾静注より移植した。移植後、経時に眼窓より末梢血を回収し、FACSによりC57BL/6-Ly5.1 pepマウス由来の細胞数の割合を算定した。定法に従い（高津聖志、免疫研究の基礎技術、羊土社1995）、末梢血の解析を行った。末梢血50μlに蒸留水を350μl加え、30秒間放置し、赤血球を溶血させた後に、2倍濃度のPBSを加え遠心し、白血球を回収した。細胞を染色バッファー（5% FCS、0.05% NaN<sub>3</sub>を含むPBS）で1回洗浄した後に、抗CD16抗体、FITC結合抗Ly5.1 (CD45.1) 抗体、フィコエリスリン結合抗Gr-1抗体およびCD11c抗体、ならびに、アロフィコシアニン結合CD90 (Thy1)抗体およびCD45R (B220)抗体（全て、Pharmingen社より購入）を添加し、水中で30分放置して反応させた後に、染色バッファーで洗浄後、FACS解析を行った。

移植後経時に、末梢血中の、Gr-1またはCD11c陽性細胞（骨髄球系）のLy5.1陽性の割合と、CD90またはCD45R陽性細胞（リンパ球系）のLy5.1陽性の割合を、それぞれ算定することにより、造血幹細胞培養期間中の再構築を行うことが可能な細胞数の増減を推定した。

結果を図3に示す。AGM-s3-A9細胞、OP9細胞、または、3T3Swiss細胞と共に培養した細胞を移植した場合は、移植後ドナー細胞の高いキメリズムが維持され、これらのストローマ細胞が高い造血幹細胞支持活性を有することが観察された。一方、AGM-s3-A7細胞、AGM-s3-G1細胞、または、NIH3T3細胞の場合、移植した細胞由来の高いキメリズムが認められず、これらのストローマ細胞株の造血幹細胞・前駆細胞の支持活性は低い。

#### （IV）造血幹細胞支持細胞に特異的に発現する遺伝子の配列の同定

AGM-s3-A9細胞、AGM-s3-A7細胞、および、OP9細胞のそれぞれをISOGEN（日本国ニッポンジーン）20mlに溶解し、添付文書に従ってトータルRNAを調製した。トータルRNA 1mgを用いて、mRNA purification kit（米国Amersham Pharmacia社）のプロトコルに従い、メッセンジャーRNAを調製した。本メッセンジャーRNAを用いて定法によりcDNAを合成し、pSPORT1（米国GIBO Lifetech社）を用いてcDNAライブラリー（以下、それぞれAGM-s3-A9 cDNA、AGM-s3-A7 cDNAおよびOP9 cDNAともいう）を構築した。本ライブラリーを用いて、SBH法（米国Hyseq社）により、AGM-s3-A7細

胞と比べた場合にAGM-s3-A9細胞あるいはOP9細胞に特異的に高発現するcDNA断片を有するクローンを取得した。取得したクローンについて、ABI377 DNAシーケンサー（米国Perkin Elmer社）を用いて塩基配列を決定した。

この結果、それぞれ配列番号1、配列番号2、配列番号3、配列番号4、配列番号5、配列番号6、および、配列番号7に示す塩基配列またはその一部を有する遺伝子の発現が、AGM-s3-A9あるいはOP9細胞でAGM-s3-A7細胞より高いことが判明した。これらの遺伝子を、それぞれ、SCR-2、SCR-3、SCR-4、SCR-5、SCR-6、SCR-7、および、SCR-8と命名した。

#### 実施例2 SCR-2のクローニングおよび活性評価

配列番号1の塩基配列に関し、GenBankデータベースをBLASTを用いて検索することで、SCR-2は、登録番号AF185613のマウス遺伝子*Mus musculus glypican-1* (Gpc-1)と同一の遺伝子であることが判明した。SCR-2のORF(Open Reading Frame)の塩基配列および同塩基配列より推定されるアミノ酸配列を配列番号8に示す。アミノ酸配列のみを配列番号9に示す。

Gpc-1のヒト塩基配列は、GenBankデータベースに登録番号AX020122で登録されている。AX020122のORFの塩基配列および同塩基配列より推定されるアミノ酸配列を配列番号10に示す。アミノ酸配列のみを配列番号11に示す。

SCR-2の造血幹細胞または造血前駆細胞支持活性評価を以下のように行った。

##### (1) マウスSCR-2発現レトロウイルスベクターの構築

SCR-2のORFの塩基配列に基づいてレトロウイルスベクタークローニング用に、下記の塩基配列を有するSCR-2FsalおよびSCR-2Recoプライマーを作製し、OP9 cDNAをテンプレートに用いてPCRを実施した。

SCR-2Fsal

CCGGTCGACCACCAatggaaactccggacccgaggctgg (配列番号30)

SCR-2Reco

CCGAATTCTtaccgccacctggccctggctgc (配列番号31)

增幅断片を制限酵素EcoRIとSallで消化し、電気泳動の後、JETSORB（独国Genome

d社)を用いてDNA断片の精製を行った。精製DNA断片を、同様にEcoRIおよびXbaIで消化したpMX-IRES-GFPベクター(東大医研、北村俊雄教授より分与)と連結した。pMX-IRES-GFPベクターは、レトロウイルスベクターpMXにIRES (Internal Ribosome Entry Site)、および、GFP (Green Fluorescence Protein)をコードする配列を挿入したプラスミドである。IRES (Internal Ribosome Entry Site)は、mRNAの途中からリボソームがアクセスできる。したがい、発現ベクターを構築するときに一つの転写単位の中にIRESを挟んで上流、下流に遺伝子を繋げることで、一つのmRNAから二つの遺伝子を発現させることが可能となる。上記プラスミドでは、上流にSCR-2のcDNAが挿入され、下流に蛍光蛋白質であるGFP (Green Fluorescence Protein)をコードする配列が挿入されており、GFPの発現状況をFACSで検出することによって、SCR-2の発現をモニターすることができる。

得られた組換えベクターを大腸菌DH5 $\alpha$ に遺伝子導入し、100  $\mu$ g/mlアンピシリンを含むLB寒天培地に蒔き、單一コロニーを形成させた。単離したコロニーを100  $\mu$ g/mlアンピシリンを含むLB培地100mlで培養後、QIAGENTip100 (米国QIAGEN社)を用いてプラスミドの精製を行った。挿入遺伝子の配列を常法にしたがって決定し、SCR-2のORFの塩基配列と一致していることを確認した。

## (2) SCR-2強発現ストローマ細胞の作製

コラーゲンタイプIコート60mm dish (旭テクノグラス社)に $2 \times 10^6$ 個のBOSC23細胞を蒔き、37°C、5% CO<sub>2</sub>、湿度100%の条件下、10% FCSを含むDMEM培地で培養を開始し、12~18時間後に前記培地をOPTI MEM培地 (GIBCO BRL社) 2mlで置換した。

前記のpMX-IRES-GFPにSCR-2を挿入したプラスミド約3 $\mu$ gを、OPTI MEM培地100  $\mu$ lで希釈したLIPOFECTAMINE Reagent (GIBCO BRL社) 18  $\mu$ lに加え、30分室温に静置した。調製したDNA溶液を上記で用意したBOSC23細胞培養液中に添加した。約5時間後に2mlの20% FCSを含むDMEM培地 (GIBCO BRL社)を添加した。

約24時間後に、培地を10%FCS入りDMEM 4mlに置換し、さらに約48時間後に培養液を回収した。培養液を0.45  $\mu$ mフィルターでろ過後、1200gで16時間遠心し、培養上清を捨てることでウイルス沈殿を取得した。

AGM-s3-A7あるいはAGM-s3-A9細胞を24wellプレート (FALCON社)に $1 \times 10^4$ 個ずつ、

10% FCSを含むMEM $\alpha$ 培地（GIBCO BRL社）1ml中で培養した。12～18時間後に、ウイルス沈殿を1mlの10% FCSを含むMEM $\alpha$ 培地に懸濁し、ストローマ細胞培養液とウイルス懸濁液を置換した。さらにPOLYBRENE（シグマ、SEQUA-BRENE）を10 $\mu$ g/mlになるように添加し、培養皿を700gで45分遠心後、37°C、5% CO<sub>2</sub>、湿度100%の条件下で培養した。48時間後、培地を10% FCSを含むMEM $\alpha$ 培地1mlに置換し、さらに24時間後、6wellプレート（FALCON社）に継代し10% FCSを含むMEM $\alpha$ 培地3mlで培養した。継代48時間後、セルソーター（FACSVantage、Becton Dickinson社）にてストローマ細胞のGFP発現を確認し、80%以上の細胞がSCR-2を発現していることを間接的に確認した。

また、pMX-IRES-GFPにSCR-2を挿入したプラスミドの代わりにpMX-IRES-GFPベクターを用いて同様の操作を行い、コントロールベクターを導入したストローマ細胞を調製した。

（3）ヒト造血幹細胞とSCR-2強発現ストローマ細胞との共培養、ならびに、コロニーアッセイによる造血幹細胞および造血前駆細胞の増殖状況の評価

実施例1の（III）（1）3）～4）に記載のようにして、レトロウイルスによりSCR-2を強発現させたAGM-s3-A9細胞もしくはAGM-s3-A7細胞、コントロールベクターを導入したAGM-s3-A9細胞もしくはAGM-s3-A7細胞、または、AGM-s3-A9細胞もしくはAGM-s3-A7細胞を、CD34陽性ヒト臍帯血由来造血幹細胞と共に培養し、コロニーアッセイにより造血幹細胞および造血前駆細胞の増殖状況を評価した。

図4に、CD34陽性造血幹細胞と、SCR-2を強発現するAGM-s3-A9（A9/SCR-2）、コントロールベクターを導入したAGM-s3-A9（A9/pMXIG）またはAGM-s3-A9（A9）とを2週間共培養したときの結果を示す。また、図5にSCR-2を強発現するAGM-s3-A7、コントロールベクターを導入したAGM-s3-A7またはAGM-s3-A7とを2週間共培養したときの結果を示す。この結果、SCR-2強発現AGM-s3-A9またはSCR-2強発現AGM-s3-A7で共培養により、BFU-EおよびCFU-Cの増加が認められた。従い、SCR-2を強発現することにより、AGM-s3-A9あるいはAGM-s3-A7の造血幹細胞あるいは造血前駆細胞の支持活性が増強されることが示された。この結果から、SCR-2の遺伝子産物は、造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖、生存を支持する活性を有するあるいはストロ

ーマ細胞に作用し造血細胞支持活性を増強または付与する活性を有することが明らかとなつた。

#### 実施例3 SCR-3のクローニングおよび活性評価

配列番号2の塩基配列に関し、GenBankデータベースをBLASTを用いて検索することで、SCR-3は、登録番号U15209、Mus musculus chemokine MMRP2 mRNA、U19482、Mus musculus C10-like chemokine mRNA、および、U49513、Mouse macrophage inflammatory protein-1gamma mRNAのマウス遺伝子と同一の遺伝子であることが判明した。SCR-3のORFの塩基配列および同塩基配列より推定されるアミノ酸配列を配列番号1-2に示す。アミノ酸配列のみを配列番号1-3に示す。

SCR-3の造血幹細胞または造血前駆細胞支持活性評価を以下のように行った。

##### (1) マウスSCR-3発現レトロウイルスベクターの構築

SCR-3のORFの塩基配列に基づいてレトロウイルスベクタークローニング用に、下記の塩基配列を有するSCR-3F<sub>Xba</sub>IおよびSCR-3R<sub>Ec</sub>O配列のプライマーを作製し、AGM-s3-A9 cDNAをテンプレートに用いてPCRを実施した。增幅断片を、実施例2の(1)と同様の方法によりレトロウイルスベクターpMX-IRES-GFPに挿入した。

SCR-3F<sub>Xba</sub>I

ccgCTCGAGccaccATGAAGCCTTTCTACTGCC (配列番号3-2)

SCR-3R<sub>Ec</sub>O

tccGAATTCTtattgttttaggtccgtgg (配列番号3-3)

##### (2) SCR-3強発現ストローマ細胞株の作製

上記のレトロウイルスベクターを用いて、実施例2の(2)と同様にしてSCR-3強発現AGM-s3-A7細胞を作製した。

##### (3) SCR-3強発現ストローマ細胞の造血幹細胞支持活性の評価

AGM-s3-A7細胞、レトロウイルスによりSCR-3を強発現させたAGM-s3-A7細胞、ならびに、コントロールベクターを導入したAGM-s3-A7細胞を、それぞれ、 $1 \times 10^5$ 個ずつ24ウェルの培養皿に播種することの他は、実施例1の(III)(2)と同様にし

て造血幹細胞支持活性の評価を行った。

結果を図6に示す。SCR-3を強発現するAGM-s3-A7細胞と共に培養した造血幹細胞(A7/SCR-3)は移植後、それぞれの親株またはコントロールベクターを導入した細胞と共に培養した造血幹細胞(A7またはA7/pMXIG)に比べて、レシピエント個体で高いキメリズムを示した。この高いキメリズムは2ヶ月後の骨髄球系およびリンパ球系細胞で確認され、放射線照射マウスの体内で造血系を再構築できる造血幹細胞および造血前駆細胞が、共培養期間中に、SCR-3を導入されていない細胞との共培養と比べて優位に維持・増幅されていたことが判明した。この結果から、SCR-3の強発現により、ストローマ細胞の造血幹細胞または造血前駆細胞の生存、増殖支持能が増強されることが示された。したがい、SCR-3の発現産物は造血幹細胞または造血前駆細胞に作用し、その生存あるいは増殖を支持する活性を有する、あるいは、ストローマ細胞に作用し造血幹細胞支持活性を増強または付与する活性を有することが明らかになった。

#### 実施例4 SCR-4のクローニングおよび活性評価

配列番号3の塩基配列に関し、GenBankデータベースをBLASTを用いて検索したところ、SCR-4は、登録番号AF131820 *Homo sapiens* clone 25077 mRNAと高い相同意識が確認され、SCR-4はAF131820のマウスオーソログと判明した。また、この配列はW0 00/66784に記載されている。

AF131820のORFの塩基配列および同塩基配列より推定されるアミノ酸配列を配列番号1~6に示す。アミノ酸配列のみを配列番号1~7に示す。

その塩基配列およびその塩基配列においてORFと考えられる塩基配列から推定されるアミノ酸配列を配列番号1~4に示す。アミノ酸配列のみを配列番号1~5に示す。

SCR-4の造血幹細胞または造血前駆細胞支持活性評価を以下のように行った。

##### (1) ヒトSCR-4発現レトロウイルスベクターの構築

胎児肝臓由来メッセンジャーRNA(米国CLONTECH社)3μgより、オリゴdTプライマー、逆転写酵素(SuperscriptII、GIBCO-BRL社)を用いてcDNAを合成した。本cDNAを錆型として、ヒトSCR-4のORF領域を下記の塩基配列を有するプライマー-HSCR

-4F<sub>Xba</sub>IおよびHSCR-4R<sub>Rec</sub>oRVでPCR増幅し、XbaIで消化した後に、実施例2（1）と同様の方法によりレトロウィルスベクターpMX-IRES-GFPに挿入した。その際、pMX-IRES-GFPは制限酵素EcoRIで消化の後、KOD DNA合成酵素（東洋紡日本国）を用いて平滑化した後に制限酵素XbaIで消化した。

HSCR-4F<sub>Xba</sub>I

CCGCTCGAGCCACCAatgttggctgcaaggctgggtgt (配列番号34)

HSCR-4R<sub>Rec</sub>oRV

CCGGATATCteattttttgttgcctcca (配列番号35)

## （2）ヒトSCR-4強発現ストローマ細胞株の作製

上記のレトロウィルスベクターを用いて、実施例2の（2）と同様にしてヒトSCR-4強発現AGM-s3-A9細胞を作製した。

## （3）ヒト造血幹細胞とヒトSCR-4強発現ストローマ細胞との共培養、ならびに、コロニーアッセイによる造血幹細胞および造血前駆細胞の増殖状況の評価

実施例1の（III）（1）3）～4）に記載のようにして、レトロウイルスによりSCR-4を強発現させたAGM-s3-A9細胞、コントロールベクターを導入したAGM-s3-A9細胞、または、AGM-s3-A9細胞細胞を、CD34陽性ヒト臍帯血由来造血幹細胞と共に培養し、コロニーアッセイにより造血幹細胞および造血前駆細胞の増殖状況を評価した。

図7に、CD34陽性造血幹細胞と、ヒトSCR-4を強発現させたAGM-s3-A9、コントロールベクターを導入したAGM-s3-A9、または、AGM-s3-A9とを2週間共培養したときの結果を示す。この結果、ヒトSCR-4強発現AGM-s3-A9との共培養により、BFU-E、ならびにCFU-Cの増加が認められた。従い、ヒトSCR-4を強発現することにより、AGM-s3-A9の造血幹細胞あるいは造血前駆細胞の支持活性が増強されることが示された。この結果から、ヒトSCR-4は、造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖、生存を支持する活性を有するあるいはストローマ細胞に作用し造血細胞支持活性を付与する活性を有することが明らかとなった。

### 実施例5. SCR-5のクローニングおよび活性評価

SBH解析で得られた配列番号4の塩基配列には、ORFの存在が推測された。ORFの塩基配列および同塩基配列より推定されるアミノ酸配列を配列番号18に示す。アミノ酸配列のみを配列番号19に示す。

配列番号18の塩基配列に関し、GenBankデータベースをBLASTを用いて検索したところ、登録番号AF325503 *Homo sapiens esophageal cancer related gene 4 protein (ECRG4)* mRNAと高い相同意が確認され、SCR-5はAF325503のマウスオーソログと判明した。

AF325503のORFの塩基配列および同塩基配列より推定されるアミノ酸配列を配列番号20に示す。アミノ酸配列のみを配列番号21に示す。

SCR-5の造血幹細胞または造血前駆細胞支持活性評価を以下のように行った。

### (1) マウスSCR-5発現レトロウイルスベクターの構築

SCR-5のORFの配列に基づいてレトロウィルスベクタークローニング用に、下記の塩基配列を有するSCR-5F<sub>Xba</sub>IおよびSCR-5Rbluntプライマーを作製し、配列番号23の塩基配列を有するDNAをテンプレートに用いてPCRを実施し、増幅断片を制限酵素XbaIで消化後、実施例2の(1)と同様の方法によりレトロウィルスベクターpMX-IRES-GFPに挿入した。その際、pMX-IRES-GFPは制限酵素EcoRIで消化の後、KOD DNA合成酵素(東洋紡日本国)を用いて平滑化した後に制限酵素XbaIで消化した。

SCR-5Fxhol

ccgCTCGAGccatgagcacctcgctgcgcg (配列番号 3-6)

SCR-5R blunt

tecGTTAACttaatagtcatcatagttca (配列番号 3 7)

## (2) SCR-5強発現ストローマ細胞株の作製

上記のレトロウィルスベクターを用いて、実施例2の(2)と同様にしてSCR-5強発現AGM-s3-A7細胞を作製した。

### (3) SCR-5強発現ストローマ細胞の造血幹細胞支持活性の評価

実施例3の(3)と同様にして造血幹細胞支持活性の評価を行った。

結果を図8に示す。SCR-5を強発現するAGM-s3-A7細胞と共培養した造血幹細胞(A7/SCR-5)は移植後、それぞれの親株あるいはコントロールベクターのみを発現させた細胞と共培養した造血幹細胞(A7もしくはA7/pMXIG)に比べて、レシピエント個体で高いキメリズムを示した。この高いキメリズムは2ヶ月後の骨髄球系およびリンパ球系細胞で確認され、放射線照射マウスの体内で造血系を再構築できる造血幹細胞および造血前駆細胞が、共培養期間中にSCR-5を導入されていない細胞より優位に維持・増幅されていたことが判明した。この結果から、SCR-5の強発現により、ストローマ細胞の造血幹細胞あるいは造血前駆細胞の生存、増殖支持能が増強されることが示された。したがい、SCR-5の遺伝子産物は造血幹細胞または造血前駆細胞に作用し、その生存あるいは増殖を支持する活性を有する、あるいは、ストローマ細胞に作用し造血幹細胞支持活性を増強または付与する活性を有することが明らかになった。

### 実施例6 SCR-6のクローニングおよび活性評価

配列番号5の塩基配列をもとにプローブを作製し、AGM-s3-A9 cDNAをハイブリダイゼーションによりスクリーニングすることで、マウスSCR-6のORFを含む遺伝子を取得した。

AGM-S3-A9細胞 $1.4 \times 10^8$ 個をISOGEN(日本国ニッポンジーン)20mlに溶解し、添付文書に従ってトータルRNAを調製した。トータルRNA 1mgを用いて、mRNA purification kit(米国Amersham Pharmacia社)のプロトコルに従い、メッセンジャーRNAを調製した。調製したメッセンジャーRNA 2mgより、SMART cDNAライブラリー作製キット(米国CLONTECH)を用いて、添付文書に従ってcDNAライブラリーを15画分に分けて作製した。本ライブラリーは、独立なクローンを合計で約40万種類含んでいた。各画分について以下の条件にてPCRを実施し、SCR-6 cDNAを含む画分を同定した。

マウスSCR-6部分遺伝子断片の配列に基づいて以下のプライマーを合成し、AGM-S3-A9 cDNAライブラリー各画分を鑄型として、94°C、30秒、55°C、30秒、

72°C、1分からなる工程を1サイクルとして35サイクルのPCRを実施した。

SCR-6F

AGCTCATTACTGTATATTAA (配列番号22:1983-2002) (配列番号38)

SCR-6R

GCTATATTTCATAAAGTCATC (配列番号22:2342-2361) (配列番号39)

PCR産物を2%アガロースゲルにて電気泳動し、予想されるサイズのPCR産物が得られた画分を同定した。陽性画分のうち2画分について、15cmのシャーレに50,000ブラークずつ各2枚蒔き、37°Cで10時間保温した後、Biodyne (米国Pall社) ナイロンフィルターに各1枚ずつブラークを写しとった。転写したナイロンフィルターに対し添付文書に従ってDNAの固定処理を行い、<sup>32</sup>P標識したDNAプローブにてスクリーニングを実施した。

プローブは、以下のようにして調製した。SCR-6FとSCR-6Rを用いて、マウスSCR-6部分遺伝子断片を含むプラスミドを鋳型として、94°C、30秒、55°C、30秒、72°C、1分からなる工程を1サイクルとして35サイクルのPCRを実施した。PCR産物を2%アガロースゲルにて電気泳動し、增幅断片をJETSORBを用いて精製した。得られたPCR断片25ngを鋳型として、Megaprime labeling kit (米国Amersham Pharmacia社) を用いて、<sup>32</sup>P標識したDNAプローブを調製した。

ハイブリダイゼーション及び洗浄は、ExpressHybSolution (米国CLONTECH社) を用いて、添付文書に従って実施し、X線フィルム (日本国フジフィルム) に一日間露光し、フジフィルム自動現像機にて現像し、結果を解析した。その結果、強く露光された部分に相当する位置のブラークをシャーレから搔き取り、10cmシャーレに200個程度のブラークが出るように再度蒔き直した。上記方法にて再度スクリーニングを実施し、单一のブラークを単離した。得られたクローンについて、SMART cDNAライブラリー作製キットの添付文書に従って大腸菌JM25.8株に感染させ、JM25.8株を *in vivo* LB寒天培地上で培養しコロニーを形成させた。單一コロニーでの切り出しを実施し、感染大腸菌を、50µg/mlのアンビシリンを50µg/mlのアンビシリンを含むLB培地3mlに植菌し、30°Cで一夜培養したのち、RPM Kit (米国B10101) にてプラスミドを抽出し、約10mgのプラスミドを取得した。

挿入断片の両端を、入TriplEx5' LD-Insert Screening Amplimer (CTCGGGAAAGCGCG  
CCATTGTGTTGGT (配列番号40) :米国CLONTECH) を用いて、ABI377 DNAシーケンサーにより配列決定したところ、配列番号5の1番目以降の塩基配列を含むcDNAを含むことが判明した。さらにABI377 DNAシーケンサーを用いて全長の塩基配列を決定した。その塩基配列およびその塩基配列においてORFと考えられる塩基配列から推定されるアミノ酸配列を配列番号22に示す。アミノ酸配列のみを配列番号23に示す。

SCR-6の造血幹細胞または造血前駆細胞支持活性評価を以下のように行った。

#### (1) マウスSCR-6発現レトロウイルスベクターの構築

SCR-6のORFの塩基配列に基づいてレトロウイルスベクタークローニング用に、下記の塩基配列を有するSCR-6F<sub>Xba</sub>IおよびSCR-6R<sub>Rec</sub>Oプライマーを作製し、配列番号22の塩基配列を有するDNAをテンプレートに用いてPCRを実施し、増幅断片を実施例2の(1)と同様の方法によりレトロウイルスベクターpMX-IRES-GFPに挿入した。

SCR-6F<sub>Xba</sub>I

ccgttgtcgccaccATGGCGTTTGGCTCTCTC (配列番号41)

SCR-6R<sub>Rec</sub>O

cggaatttcTTATTGGTTCACTCTGTCTG (配列番号42)

#### (2) SCR-6高発現ストローマ細胞株の作製

上記のレトロウイルスベクターを用いて、実施例2の(2)と同様にしてSCR-6強発現AGM-s3-A9細胞を作製した。

#### (3) ヒト造血幹細胞とSCR-6強発現ストローマ細胞との共培養、ならびに、コロニーアッセイによる造血幹細胞および造血前駆細胞の増殖状況の評価

実施例1の(III)(1)3)~4)に記載のようにして、レトロウイルスによりSCR-6を強発現させたAGM-s3-A9細胞、コントロールベクターを導入したAGM-s3-A9細胞、または、AGM-s3-A9細胞を、CD34陽性ヒト臍帯血由来造血幹細胞と共に培養し、

コロニーアッセイにより造血幹細胞および造血前駆細胞の増殖状況を評価した。

図9に、CD34陽性造血幹細胞と、SCR-6を強発現させたAGM-s3-A9 (A9/SCR-6)、コントロールベクターを導入したAGM-s3-A9 (A9/pMX1G) またはAGM-s3-A9 (A9) とを2週間共培養した結果を示す。この結果、SCR-6発現AGM-s3-A9との共培養により、BFU-E、ならびにCFU-Cの増加が認められた。従い、SCR-6を強発現することにより、AGM-s3-A9の造血幹細胞あるいは造血前駆細胞の支持活性が増強されることが示された。この結果から、SCR-6の遺伝子産物は、造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖、生存を支持する活性を有するあるいはストローマ細胞に作用し造血細胞支持活性を増強または付与する活性を有することが明らかとなった。

#### 実施例7 SCR-7のクローニングおよび活性評価

SBB解析で得られた配列番号6の塩基配列には、ORFの存在が推測された。ORFの塩基配列および同塩基配列より推定されるアミノ酸配列を配列番号24に示す。アミノ酸配列のみを配列番号25に示す。

SCR-7の造血幹細胞または造血前駆細胞支持活性評価を以下のように行った。

##### (1) マウスSCR-7発現レトロウイルスベクターの構築

SCR-7のORFの塩基配列に基づいてレトロウイルスベクタークローニング用に、下記の塩基配列を有するSCR-7FSallIおよびSCR-7Recoのプライマーを作製し、配列番号24の塩基配列を有するDNAをテンプレートに用いてPCRを実施し、增幅断片を実施例2の(1)と同様の方法によりレトロウイルスベクターpMX-IRES-GFPに挿入した。

SCR-7FSallI

acgcgtcgaccaccatGCCCGCTACGGAGTTG (配列番号43)

SCR-7Reco

attGAATTCTCACTTCTCCTCTCTTGT (配列番号44)

##### (2) SCR-7高発現ストローマ細胞株の作製

上記のレトロウイルスベクターを用いて、実施例2の(2)と同様にしてSCR-7

強発現AGM-s3-A9細胞を作製した。

(3) ヒト造血幹細胞とSCR-7強発現ストローマ細胞との共培養、ならびに、コロニーアッセイによる造血幹細胞および造血前駆細胞の増殖状況の評価

実施例1の(III)(1)3)~4)に記載のようにして、レトロウイルスによりSCR-7を強発現させたAGM-s3-A9細胞、コントロールベクターを導入したAGM-s3-A9細胞、または、AGM-s3-A9細胞を、CD34陽性ヒト臍帯血由来造血幹細胞と共に培養し、コロニーアッセイにより造血幹細胞および造血前駆細胞の増殖状況を評価した。

図10に、CD34陽性造血幹細胞と、SCR-7を強発現するAGM-s3-A9 (A9/SCR-7)、コントロールベクターを導入したAGM-s3-A9 (A9/pMXI6)、または、AGM-s3-A9 (A9)と2週間共培養したときの結果を示す。この結果、SCR-7強発現AGM-s3-A9との共培養により、BFU-E、ならびにCFU-Cの増加が認められた。従い、SCR-7を強発現することにより、AGM-s3-A9の造血幹細胞あるいは造血前駆細胞の支持活性が増強されることが示された。この結果から、SCR-7の遺伝子産物は、造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖、生存を支持する活性を有する、あるいはストローマ細胞に作用し造血細胞支持活性を増強または付与する活性を有することが明らかとなった。

#### 実施例8 SCR-8のクローニングおよび活性評価

配列番号7の塩基配列に関し、GenBankデータベースをBLASTを用いて検索することで、SCR-8は、登録番号AB009673 *Mus musculus* mRNA for ADAM23、と同一の遺伝子であることが判明した。SCR-8のORFの塩基配列および同塩基配列より推定されるアミノ酸配列を配列番号26に示す。アミノ酸配列のみを配列番号27に示す。

また、JP11155574-Aに記載されたHuman MDC3 protein. [Homo sapiens]のコードする配列は、SCR-8と90%以上の相同意を示し、SCR-8のヒトオーソログ遺伝子である。このORFの塩基配列および同塩基配列より推定されるアミノ酸配列を配列番号28に示す。アミノ酸配列のみを配列番号29に示す。

SCR-8の造血幹細胞または造血前駆細胞支持活性評価を以下のように行った。

(1) マウスSCR-8発現レトロウイルスベクターの構築

SCR-8のORFの塩基配列に基づいてレトロウイルスベクタークローニング用に下

記の塩基配列を有するSCR-8F<sub>Xba</sub>IおよびSCR-8R<sub>Rec</sub>Oプライマーを作製し、AGM-s3-A9 cDNAをテンプレートに用いてPCRを実施し、増幅断片を実施例2の(1)と同様の方法によりレトロウィルスベクターpMX-IRES-GFPに挿入した。

SCR-8F<sub>Xba</sub>I

ccgcctcggccaccATGAAGCCGCCGGCAGCATC (配列番号45)

SCR-8R<sub>Rec</sub>O

cggaatttcTCAGATGGGGCCTTGCTGAGT (配列番号46)

#### (2) SCR-8高発現ストローマ細胞株の作製

上記のレトロウィルスベクターを用いて、実施例2の(2)と同様にしてSCR-8強発現AGM-s3-A9細胞を作製した。

#### (3) ヒト造血幹細胞とSCR-8強発現ストローマ細胞との共培養、ならびに、コロニーアッセイによる造血幹細胞および造血前駆細胞の増殖状況の評価

実施例1の(III)(1)3)~4)に記載のようにして、レトロウイルスによりSCR-8を強発現させたAGM-s3-A9細胞、コントロールベクターを導入したAGM-s3-A9細胞、または、AGM-s3-A9細胞を、CD34陽性ヒト臍帯血由来造血幹細胞と共に培養し、コロニーアッセイにより造血幹細胞および造血前駆細胞の増殖状況を評価した。

図11に、CD34陽性造血幹細胞と、SCR-8を強発現するAGM-s3-A9、コントロールベクターを導入したAGM-s3-A9、または、AGM-s3-A9とを2週間共培養したときの結果を示す。この結果、SCR-8発現AGM-s3-A9との共培養により、BFU-EおよびCFU-Cの増加が認められた。従い、SCR-8を強発現することにより、AGM-s3-A9の造血幹細胞あるいは造血前駆細胞の支持活性が増強されることが示された。この結果から、SCR-8の遺伝子産物は、造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖、生存を支持する活性を有する、あるいはストローマ細胞に作用し造血細胞支持活性を増強または付与する活性を有することが明らかとなった。

**SEQUENCE LISTING**

110 KIRIN BEER KABUSHIKI KAISHA

<120> 造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖または生存を支持し得るポリペプチドおよびそれをコードするDNA

<130> OP1197

160 46

<170> PatentIn version 3.0

210 1

5211 343

<212> DNA

<213> *Mus musculus*

<400> 1

ccatatggca caacgacatg gacitccaga atctctatgtg tgcacgcacat ggctccggaca 60

ccccggacccctttgaccatggccctcccccaacctgtcagaacaggaaaggaaacaaagaccc 180

ccactggccac ctggcccaagaa ccccaacagct tctttctctact cttcccttcgttc accctttatcc 240

ttccggccggc cggccccccggc tggccggtaac tccccccctat cccagacacgt aactcttgggt 300

<210> 2

<211> 546

<212> DNA

<213> *Mus musculus*

1400> 2

tgtaccccaq ggacttcctq atctctttac atgtataaaat aqcaaqaccq ggcccaqqaac 60

atcaaaacgt ctgtaaaggcca gcttggatcttg cccactaaga agatgtaaagcc tttttcatact 120

acaaagacaa aagaacttcca gggcgttcttgg aaggcacatgc aagggtcttgg aattgtaaaata 2400

tttcacatcg gctttcaaga ctcttcagat tctttccat cctataactc accgattca 30000

tgttcaagat ttataggta ttttcccacc agtgggggt gtaccaggcc gggcatcatc 360  
tttatcagca agagggggtt ccaggtctgt gccaaacccca gtgatcgag agttca gaga 420  
tgcattgaaa gattggagca aaactcacaa ccacggacct acaaacaata acatitgctt 480  
gaagagaagg gtgtgaactg ccagctactt tctttggct tccccagtga ccacctaagt 540  
ggctct 546

<210> 3  
<211> 1223  
<212> DNA  
<213> Mus musculus

<400> 3  
gtgaccggga agggagccccc gtggtagagg tgaccggagc tgagcatttc agatctgctt 60  
agtaaaccgg tgtatcgccc accatgttgg ctgcaaggct tgggtgtctc cggacactac 120  
cttccagggt tttccagccc acittcatca ccaaggcctc tccacttgg aagaattcca 180  
tcacaaagaa ccaatggctc gtaacacccca gcagggata tgctaccaag acaagaattta 240  
ggactcacccg tggaaaact ggacaagaac tgaaagaggc agccttggaa ccatcaatgg 300  
aaaaaatctt taaaatcgat caaatggaa ggtggttgt tgctggagga gcagcttgg 360  
gtcttggagc gctctgctac tatggcttgg gaatgtctaa tgagattgg a gctatcgaaa 420  
aggctgtat ttggcctcag tatgtaaagg atagaatcca ttctacttac atgtacttag 480  
caggaaggta ttgtttaaca gctttgtctg cttggcagt agccagaaca cctgctctca 540  
tgaacttcat gatgacaggc tcttgggtga caattgggtc gacccttgc gcatgattt 600  
gagctggaat gcttgcacac tcaatatcat atgagcagag cccaggccca aagcatctgg 660  
cttggatgct gcattctggt gtgtatgggt cagttgtggc tcctctgacg atcttagggg 720  
ggccctttct cctgagagcc gcatggtaca cccgtgtat tggggaggc ctctctactg 780  
tggccatgtg tgcgcctagt gagaagtttca tgaacatggg agcacccttgg 840  
tgggtttgt ctgtcggtct tctctgggt ctatgtttct tccccctacc tctgtggctg 900

gtgccacict gtactcagtg gcaatgtatg gtggattagt tcttticago atgttcottc 960  
tgtatgatac tcagaaaagta atcaaacgtg cagaaataac acccatgtat ggagctcaaa 1020  
agtatgatcc catcaattcg atgttgacaa tctacatgga tacattaaat atatttatgc 1080  
gagttgcaac tatgctagca actggaagca acagaaaagaa atgaagtaac cgcttgcgtat 1140  
gtctccgctc actgatgtct tgctigitta ataggaggcag atagtcatta cagttgcat 1200  
cagcagaatt cccgcgcggc cgc 1223

<210> 4  
<211> 839  
<212> DNA  
<213> Mus musculus

<400> 4  
gctgtgcctg gcatcagtct tgcctctcc ctttggcca cgccgcctt ctcagcgatt 60  
tgcagcagac ccgcaggca gtgtgcctcg gtggcaitga actgaagctt ggctctcgcc 120  
ctggccigct ggctagttgc ccaccctgtg ggtcccgccc agagcaagga tactggagct 180  
ttcgcctgcc tcaactgagcc tgggtctcca ctccagtcat ccctccagct actttgcagc 240  
acitctgtcgc catgagcacc tcgtctgcgc ggcctgcagt cctggccctt gcccggctgg 300  
ctctgtctt tctgtgtgc ctgggtccag atggcataag tggaaacaaa ctcaagaaga 360  
tgctccagaa acgagaagga cctgtcccgta caaagactaa ttagctgtt gcccggaaaca 420  
cagcaaagga attccttaggt ggcctgaagc gtgcacaaacg acagctgtgg gaccgtacgc 480  
ggcctgaggt acagcagtgg taccagcagt tcctctacat gggcttgcgtt gaggctaaat 540  
ttgaagatga tgtcaactat tggctaaaca gaaatcgaaa cggccatgac tactatggtg 600  
actactacca ggcgtcattat gatgaagatg cggccatgg tccccacagc cggaaagct 660  
tcaggcatgg agccagtgtg aactatgtatg actattaagc ttccctgaggt gcccacagag 720  
cttgcctcg cttagttagg ctttcctcac ctataccacg tgaccatcag gctaaaggaa 780  
agaatataag tgcttttgc atttcatgca tgtgcctaac gatatgtctc acitaaaaaa 839

210 5

<211> 1420

<212> DNA

<213> *Mus musculus*

400 5

ccctatcccta ttiiqatggaa tggcaatgtct aagcaaqcaa gcactgttca cttgtgactt 60

tcaatttttca cactatcacac ttgtcaaaqac aaatgtgcat qqaaaaatgt ttatgttcac 120

cttcatggat tcctcggatc agtggaccctc aaacgggtctt acaaatacgatc tctttttctag 180

atccggatct ccttgtggaa ttctctgtac attttatcttt acttgtctaaaca ttatcagat 240

卷之三十一

Journal of Nonlinear Science, Vol. 11, No. 4, pp. 371-395, 2001  
© 2001 Kluwer Academic Publishers. Printed in the Netherlands.

Aggregate sedimentation distributions (aggregates) (August 2011) (August 2011)

atgtaaatgggc aggtttatataat tgcattatctt cccctgggttgc tccaggaaadaa agtttagaaataa 7820

aaataagt<sup>tg</sup> catag<sup>ttt</sup>tg aggaaaacatc caaaagcaagg cgaaggcc<sup>ttt</sup> ctttgcc<sup>ttt</sup>tg 1080

cattggcaaa actacctctt tagcatttat gtgtgatttcag aaacatcttg ctgtatatgtg 1146

tagattttt aagtttcatt gtggaaaatat tgatgcaga taagccatat atgaatgttg 1200

tattcaacct tagggcttga aattaatcct aaagtgttca cctctetcca tgtctattta 1260

cactctgttc ctatTTacta agagggtagg ggtctcctta atatcatact tcattgttaa 1320  
taagtcaatg ctTgttaatgt ttcttggctg ttgtttttgt gcattaaaaaa ctcaaaattg 1380  
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1420

<210> 6  
<211> 763  
<212> DNA  
<213> *Mus musculus*

<400> 6  
cccgccccctcg cgaccccccggc tctcctggac tcggccgcgc caacctgggc gatgccccgc 60  
tacgagttgg ctttgattct gaaagccatg cggcgccag agaccgctgc tgctttgaaa 120  
cgtacaatag aatccctgtat ggaccgagga gccatagtga ggaacttggaa aagcctgggt 180  
gagcgtgcgc tccctacag gatctcgagt cacagccagc agcacagccg aggagggtat 240  
ttcctggtgg atttttatgc tccgacaagt gctgtggaga acatactggaa acacttggcg 300  
cgagacatttgc acgtggtttag accaaatattt gtgaaacacc ctctgacccca ggaagtaaaa 360  
gagtgtgacg gcatagtcccc agtcccactt gaagaaaaac tgtattcaac aaagaggagg 420  
aagaagttag aagatttacc agattctggc cttatattta atcctaaggg cactatgggt 480  
gctgcttaggt ttttgtctag gatacttttag cccatgacca ttttgctgca ggaggttagaa 540  
actgctggcc gagacccgtcc ctgtatgtctc tgctgagatt tcattccact tgtggggttt 600  
gtcgggagtg ggggtgttca cagtaccact gtagcgtttc caagagcaaa atgtttgtca 660  
ttcacacttg gttgtcttgc aagcctatat ggaacacttgg gagcagagta ataaacatga 720  
ctttatcaac actggaaaaaa aaaaaaaaaaaa aaaaaaaaaaaa aaa 763

<210> 7  
<211> 1300  
<212> DNA  
<213> *Mus musculus*

<400> 7  
ggtatgcagt ctttcgttg aatttgctgt ttttttatat agtaataaca gcgcataatcta 60

taaggcttac tggccttatt cctggttcca taagacacag gctgtacccc ttactgaat	120
ggcatggct cagcttggag gaaagtca gaaattcag ataacttggt atctcttct	180
gtcgttcaa tgttcgggg tccacttcac tatgagatac caagcagctg ccaacctcac	240
catactcatt tcgttacaat ttctgaggca ccgtggtgac ttgatccgac atacgaccac	300
gtcagttaca aaccagatct ttatggtaa ctttgaaca tttcacaaac aacattgtaa	360
atgtgcgtat ttatgtttt aatcagacca cagtggccca caaatattat gtacatatga	420
caaatgtcag tgtaactttt tgttacactg acagtttcat agttaaacaac acctacgctc	480
caatgttaaa ttatgttgt gtatgtaaaa tacacaagca ttgggtatg tgtgtacgga	540
catgaggta gtcaatcgt actgtacgaa atgggtcaga atcattttca gtgggttag	600
tttatgttagt ttcaagactcc atgctgcatt ttcttttgc catgccatcc atttgcttat	660
tttggagtgt gagtattcct tcttattaaat ttgaattcaa agcacaagcc tcccatgtt	720
caacattacc caacaagagt gtccagtat gaccgagtt ttcacccgtc tatacttttta	780
ctgcaataat taatgacacc tggatgagga ggcgtgcgt gacttcattt ttcacccggg	840
atagtgcgtat agcccaactga attagagctg ctttaccatg caaaagttag cagtacacat	900
aggtgcgtat ttgaaacatg aatcacatag agctatggag ttgttgcag tgatgtttt	960
tctttttctt ttttctttt ttttctttt ctttctttt ttccctttct tcttcttctt	1020
ctttttttt tttttacta tgcaaagatg gaaaatgcac aaacttccaa gacatgtctg	1080
aagaacttta caatacttga atttttctt taatcatccc atcacattta tggcattgtat	1140
gcttccattt tattttctt ttgtcccttc aactcaatg gttttaatt tcaatgcaca	1200
acctaacttt tgtttgcagt aacttccaaat cctattggct gcctggaaacg gagattctgt	1260
catcctacac gcatctttta gttgactgtg cataaaagtt	1300

<210> 8  
 <211> 1674  
 <212> DNA  
 <213> Mus musculus

<220>  
<221> CDS  
<222> (1)..(1671)

<400>	8			
atg gaa ctc cgg acc cga ggc tgg tgg ctg ctg tgc gcg gcc gcc gcg				48
Met Glu Leu Arg Thr Arg Gly Trp Trp Leu Leu Cys Ala Ala Ala Ala				
1	5	10	15	
ctg gtc gtc tgc gcc cgc ggg gac ccc gcc agc aag agc cgg agc tgc				96
Leu Val Val Cys Ala Arg Gly Asp Pro Ala Ser Lys Ser Arg Ser Cys				
20	25	30		
agc gaa gtc cgc cag atc tac ggg gct aag ggc ttt agc ctg agc gat				144
Ser Glu Val Arg Gln Ile Tyr Gly Ala Lys Gly Phe Ser Leu Ser Asp				
35	40	45		
gtg ccc cag gca gag atc tcg ggt gag cac ctg cgg atc tgc ccc cag				192
Val Pro Gln Ala Glu Ile Ser Gly Glu His Leu Arg Ile Cys Pro Gln				
50	55	60		
ggc tac act tgc tgt acc agt gag atg gag gag aat ttg gcc aac cac				240
Gly Tyr Thr Cys Cys Thr Ser Glu Met Glu Glu Asn Leu Ala Asn His				
65	70	75	80	
agc cga atg gag ctg gag agc gca ctc cat gac agc agc cgc gcc ctg				288
Ser Arg Met Glu Leu Glu Ser Ala Leu His Asp Ser Ser Arg Ala Leu				
85	90	95		
cag gcc aca ctg gcc acc cag ctg cat ggc atc gat gac cac ttc cag				336
Gln Ala Thr Leu Ala Thr Gln Leu His Gly Ile Asp Asp His Phe Gln				
100	105	110		
cgc ctg ctg aat gac tcg gag cgc aca ctg cag gag gct ttc cct ggg				384
Arg Leu Leu Asn Asp Ser Glu Arg Thr Leu Gln Glu Ala Phe Pro Gly				
115	120	125		
gcc ttt ggg gac ctg tat acg cag aac act cgt gcc ttc cgg gac cta				432
Ala Phe Gly Asp Leu Tyr Thr Gln Asn Thr Arg Ala Phe Arg Asp Leu				
130	135	140		
tat gtt gag ctg cgc ctc tac tac cgt ggg gcc aac ctg cac ctt gag				480
Tyr Val Glu Leu Arg Leu Tyr Tyr Arg Gly Ala Asn Leu His Leu Glu				
145	150	155	160	
gag acg ctg gcc gag ttc tgg gca cgg ctg ctg gag cgc ctc ttc aag				528
Glu Thr Leu Ala Glu Phe Trp Ala Arg Leu Leu Glu Arg Leu Phe Lys				
165	170	175		

cag ctg cac ccc cag ctg ctg cct gat gac tac ctg gac tgc ctg ggc Gln Leu His Pro Gln Leu Leu Pro Asp Asp Tyr Leu Asp Cys Leu Gly 180 185 190	576
aag cag gcg gag gca ctg cgg ttt gga gat gcc cct cga gaa ctg Lys Gln Ala Glu Ala Leu Arg Pro Phe Gly Asp Ala Pro Arg Glu Leu 195 200 205	624
cgc ctg cgg gcc acc cgt gcc ttt gtg gct gca cgt tcc ttt gtg cag Arg Leu Arg Ala Thr Arg Ala Phe Val Ala Ala Arg Ser Phe Val Gln 210 215 220	672
ggc ctg ggt gtg gcc agt gat gta gtc cgg aag gtg gcc cag gta cct Gly Leu Gly Val Ala Ser Asp Val Val Arg Lys Val Ala Gln Val Pro 225 230 235 240	720
ctg gcc cca gaa tgt tct cgg gcc atc atg aag ttg gtc tac tgt got Leu Ala Pro Glu Cys Ser Arg Ala Ile Met Lys Leu Val Tyr Cys Ala 245 250 255	768
cat tgc cgg gga gtc ccg ggc gcc cgg ccc tgc ccc gac tat tgc cga His Cys Arg Gly Val Pro Gly Ala Arg Pro Cys Pro Asp Tyr Cys Arg 260 265 270	816
aat gtg ctc aaa ggc tgc ctt gcc aac cag gcc gac ctg gat gcc gag Asn Val Leu Lys Gly Cys Leu Ala Asn Gln Ala Asp Leu Asp Ala Glu 275 280 285	864
tgg agg aac ctc ctg gac tcc atg gtg ctc atc act gac aag ttc tgg Trp Arg Asn Leu Leu Asp Ser Met Val Leu Ile Thr Asp Lys Phe Trp 290 295 300	912
ggc ccg tcg ggt gcg gag agt gtc att ggc ggt gtg cac gtg tgg ctg Gly Pro Ser Gly Ala Glu Ser Val Ile Gly Gly Val His Val Trp Leu 305 310 315 320	960
gcg gag gcc atc aac gcc ctc cag gac aac aag gac aca ctc aca gct Ala Glu Ala Ile Asn Ala Leu Gln Asp Asn Lys Asp Thr Leu Thr Ala 325 330 335	1008
aag gtc atc cag gcc tgt gga aac ccc aag gtc aat ccc cac ggc tct Lys Val Ile Gln Ala Cys Gly Asn Pro Lys Val Asn Pro His Gly Ser 340 345 350	1056
ggg ccc gag gag aag cgt cgc cgt ggc aaa ttg gca ctg cag gag aag Gly Pro Glu Glu Lys Arg Arg Gly Lys Leu Ala Leu Gln Glu Lys 355 360 365	1104

ccc tcc aca ggt act ctg gaa aaa ctg gtc tct gag gcc aag gcc cag			1152
Pro Ser Thr Gly Thr Leu Glu Lys Leu Val Ser Glu Ala Lys Ala Gln			
370	375	380	
ctc cga gac att cag gac ttc tgg atc agc ctc cca ggg aca ctg tgc			1200
Leu Arg Asp Ile Gln Asp Phe Trp Ile Ser Leu Pro Gly Thr Leu Cys			
385	390	395	400
agt gag aag atg gcc atg agt cct gcc agt gat gac cgc tgc tgg aat			1248
Ser Glu Lys Met Ala Met Ser Pro Ala Ser Asp Asp Arg Cys Trp Asn			
405	410	415	
gga att tcc aag ggc cgg tac cta cca gag gtg atg ggt gac ggg ctg			1296
Gly Ile Ser Lys Gly Arg Tyr Leu Pro Glu Val Met Gly Asp Gly Leu			
420	425	430	
gcc aac cag atc aac aac cct gag gtg gaa gtg gac atc acc aag cca			1344
Ala Asn Gln Ile Asn Asn Pro Glu Val Glu Val Asp Ile Thr Lys Pro			
435	440	445	
gac atg acc atc cgc cag cag att atg cag ctc aag atc atg acc aac			1392
Asp Met Thr Ile Arg Gln Gln Ile Met Gln Leu Lys Ile Met Thr Asn			
450	455	460	
cgt tta cgt ggc gcc tat ggc ggc aac gac gtg gac ttc cag gat gct			1440
Arg Leu Arg Gly Ala Tyr Gly Gly Asn Asp Val Asp Phe Gln Asp Ala			
465	470	475	480
agt gat gac ggc agt ggc tcc ggc agc ggt ggc gga tgc cca gat gac			1488
Ser Asp Asp Gly Ser Gly Ser Gly Gly Cys Pro Asp Asp			
485	490	495	
acc tgt ggc cgg agg gtc agc aag aag agt tcc agc tcc cgg acc ccc			1536
Thr Cys Gly Arg Arg Val Ser Lys Lys Ser Ser Ser Arg Thr Pro			
500	505	510	
ttg acc cat gcc ctc ccc ggc ctg tca gaa cag gag gga cag aag acc			1584
Leu Thr His Ala Leu Pro Gly Leu Ser Glu Gln Glu Gly Gln Lys Thr			
515	520	525	
tca gct gcc acc tgc cca gag ccc cac agc ttc ttc ctg ctc ttc ctc			1632
Ser Ala Ala Thr Cys Pro Glu Pro His Ser Phe Phe Leu Leu Phe Leu			
530	535	540	
gtc acc ttg gtc ctt gcg gca gcc agg ccc agg tgg cgg taa			1674
Val Thr Leu Val Leu Ala Ala Arg Pro Arg Trp Arg			
545	550	555	

<210> 9  
<211> 557  
<212> PRT  
<213> Mus musculus

<400> 9  
Met Glu Leu Arg Thr Arg Gly Trp Trp Leu Leu Cys Ala Ala Ala Ala  
1 5 10 15

Leu Val Val Cys Ala Arg Gly Asp Pro Ala Ser Lys Ser Arg Ser Cys  
20 25 30

Ser Glu Val Arg Gln Ile Tyr Gly Ala Lys Gly Phe Ser Leu Ser Asp  
35 40 45

Val Pro Gln Ala Glu Ile Ser Gly Glu His Leu Arg Ile Cys Pro Gln  
50 55 60

Gly Tyr Thr Cys Cys Thr Ser Glu Met Glu Glu Asn Leu Ala Asn His  
65 70 75 80

Ser Arg Met Glu Leu Glu Ser Ala Leu His Asp Ser Ser Arg Ala Leu  
85 90 95

Gln Ala Thr Leu Ala Thr Gln Leu His Gly Ile Asp Asp His Phe Gln  
100 105 110

Arg Leu Leu Asn Asp Ser Glu Arg Thr Leu Gln Glu Ala Phe Pro Gly  
115 120 125

Ala Phe Gly Asp Leu Tyr Thr Gln Asn Thr Arg Ala Phe Arg Asp Leu  
130 135 140

Tyr Val Glu Leu Arg Leu Tyr Tyr Arg Gly Ala Asn Leu His Leu Glu  
145 150 155 160

Glu Thr Leu Ala Glu Phe Trp Ala Arg Leu Leu Glu Arg Leu Phe Lys  
165 170 175

Gln Leu His Pro Gln Leu Leu Pro Asp Asp Tyr Leu Asp Cys Leu Gly  
180 185 190

Lys Gln Ala Glu Ala Leu Arg Pro Phe Gly Asp Ala Pro Arg Glu Leu  
195 200 205

Arg Leu Arg Ala Thr Arg Ala Phe Val Ala Ala Arg Ser Phe Val Gln  
210 215 220

Gly Leu Gly Val Ala Ser Asp Val Val Arg Lys Val Ala Gln Val Pro  
225 230 235 240

Leu Ala Pro Glu Cys Ser Arg Ala Ile Met Lys Leu Val Tyr Cys Ala  
245 250 255

His Cys Arg Gly Val Pro Gly Ala Arg Pro Cys Pro Asp Tyr Cys Arg  
260 265 270

Asn Val Leu Lys Gly Cys Leu Ala Asn Gln Ala Asp Leu Asp Ala Glu  
275 280 285

Trp Arg Asn Leu Leu Asp Ser Met Val Leu Ile Thr Asp Lys Phe Trp  
290 295 300

Gly Pro Ser Gly Ala Glu Ser Val Ile Gly Gly Val His Val Trp Leu  
305 310 315 320

Ala Glu Ala Ile Asn Ala Leu Gln Asp Asn Lys Asp Thr Leu Thr Ala  
325 330 335

Lys Val Ile Gln Ala Cys Gly Asn Pro Lys Val Asn Pro His Gly Ser  
340 345 350

Gly Pro Glu Glu Lys Arg Arg Arg Gly Lys Leu Ala Leu Gln Glu Lys  
355 360 365

Pro Ser Thr Gly Thr Leu Glu Lys Leu Val Ser Glu Ala Lys Ala Gln  
370 375 380

Leu Arg Asp Ile Gln Asp Phe Trp Ile Ser Leu Pro Gly Thr Leu Cys  
385 390 395 400

Ser Glu Lys Met Ala Met Ser Pro Ala Ser Asp Asp Arg Cys Trp Asn  
405 410 415

Gly Ile Ser Lys Gly Arg Tyr Leu Pro Glu Val Met Gly Asp Gly Leu  
420 425 430

Ala Asn Gln Ile Asn Asn Pro Glu Val Glu Val Asp Ile Thr Lys Pro  
435 440 445

Asp Met Thr Ile Arg Gln Gln Ile Met Gln Leu Lys Ile Met Thr Asn  
450 455 460

Arg Leu Arg Gly Ala Tyr Gly Gly Asn Asp Val Asp Phe Gln Asp Ala  
465 470 475 480

Ser Asp Asp Gly Ser Gly Ser Gly Gly Gly Cys Pro Asp Asp  
485 490 495

Thr Cys Gly Arg Arg Val Ser Lys Lys Ser Ser Ser Ser Arg Thr Pro  
500 505 510

Leu Thr His Ala Leu Pro Gly Leu Ser Glu Gln Glu Gly Gln Lys Thr  
515 520 525

Ser Ala Ala Thr Cys Pro Glu Pro His Ser Phe Phe Leu Leu Phe Leu  
530 535 540

Val	Thr	Leu	Val	Leu	Ala	Ala	Ala	Arg	Pro	Arg	Trp	Arg						
545												555						
<210> 10																		
<211> 1677																		
<212> DNA																		
<213> Homo sapiens																		
<220>																		
<221> CDS																		
<222> (1)..(1674)																		
<400> 10																		
atg	gag	ctc	cg	gcc	cga	ggc	tgg	tgg	ctg	cta	tgt	g	cc	g	ca	gc	g	48
Met	Glu	Leu	Arg	Ala	Arg	Gly	Trp	Trp	Leu	Leu	Cys	Ala	Ala	Ala	Ala	Ala	Ala	
1		5							10			15						
ctg	gtc	gcc	tgc	gcc	cgc	ggg	gac	ccg	gcc	agc	aag	agc	cg	agc	tg	cc	96	
Leu	Val	Ala	Cys	Ala	Arg	Gly	Asp	Pro	Ala	Ser	Lys	Ser	Arg	Ser	Cys			
20							25				30							
ggc	gag	gtc	cgc	cag	atc	tac	gga	gcc	aag	ggc	t	tc	ag	ct	ag	gac	144	
Gly	Glu	Val	Arg	Gln	Ile	Tyr	Gly	Ala	Lys	Gly	Phe	Ser	Leu	Ser	Asp			
35							40				45							
gtg	ccc	cag	g	g	atc	tcg	ggt	gag	cac	ctg	cg	atc	tgt	ccc	cag	192		
Val	Pro	Gln	Ala	Glu	Ile	Ser	Gly	Glu	His	Leu	Arg	Ile	Cys	Pro	Gln			
50							55			60								
ggc	tac	acc	tgc	tgc	acc	agc	gag	atg	gag	gag	aac	ctg	gcc	aac	cgc	240		
Gly	Tyr	Thr	Cys	Cys	Thr	Ser	Glu	Met	Glu	Glu	Asn	Leu	Ala	Asn	Arg			
65							70			75		80						
agc	cat	gcc	gag	ctg	gag	acc	g	ctc	cg	gac	agc	agc	cgc	gtc	ctg	288		
Ser	His	Ala	Glu	Leu	Glu	Thr	Ala	Leu	Arg	Asp	Ser	Ser	Arg	Val	Leu			
85							90			95								
cag	gcc	atg	ctt	gcc	acc	cag	ctg	cgc	agc	t	tc	gat	gac	cac	t	cag	336	
Gln	Ala	Met	Leu	Ala	Thr	Gln	Leu	Arg	Ser	Phe	Asp	Asp	His	Phe	Gln			
100							105			110								
cac	ctg	ctg	aa	gac	tcg	gag	cg	ac	ctg	cag	gg	cc	ac	t	cc	g	384	
His	Leu	Leu	Asn	Asp	Ser	Glu	Arg	Thr	Leu	Gln	Ala	Thr	Phe	Pro	Gly			
115							120			125								
gcc	ttc	gg	g	g	ctg	ta	ac	ca	gg	gg	ttc	cg	g	ac	ct	432		
Ala	Phe	Gly	Glu	Leu	Tyr	Thr	Gln	Asn	Ala	Arg	Ala	Phe	Arg	Asp	Leu			

130	135	140	
tac tca gag ctg cgc ctg tac tac cgc ggt gcc aac ctg cac ctg gag Tyr Ser Glu Leu Arg Leu Tyr Tyr Arg Gly Ala Asn Leu His Leu Glu			480
145	150	155	160
gag acg ctg gcc gag ttc tgg gcc cgc ctg ctc gag cgc ctc ttc aag Glu Thr Leu Ala Glu Phe Trp Ala Arg Leu Leu Glu Arg Leu Phe Lys			528
165	170	175	
cag ctg cac ccc cag ctg ctg cct gat gac tac ctg gac tgc ctg Gln Leu His Pro Gln Leu Leu Leu Pro Asp Asp Tyr Leu Asp Cys Leu			576
180	185	190	
ggc aag cag gcc gag gcg ctg cgg ccc ttc ggg gag gcc ccg aga gag Gly Lys Gln Ala Glu Ala Leu Arg Pro Phe Gly Glu Ala Pro Arg Glu			624
195	200	205	
ctg cgc ctg cgg gcc acc cgt gcc ttc gtg gct gct cgc tcc ttt gtg Leu Arg Leu Arg Ala Thr Arg Ala Phe Val Ala Ala Arg Ser Phe Val			672
210	215	220	
cag ggc ctg ggc gtg gcc agc gac gtg gtc cgg aaa gtg gct cag gtc Gln Gly Leu Gly Val Ala Ser Asp Val Val Arg Lys Val Ala Gln Val			720
225	230	235	240
ccc ctg ggc ccg gag tgc tcg aga gct gtc atg aag ctg gtc tac tgt Pro Leu Gly Pro Glu Cys Ser Arg Ala Val Met Lys Leu Val Tyr Cys			768
245	250	255	
gct cac tgc ctg gga gtc ccc ggc gcc agg ccc tgc cct gac tat tgc Ala His Cys Leu Gly Val Pro Gly Ala Arg Pro Cys Pro Asp Tyr Cys			816
260	265	270	
cga aat gtg ctc aag ggc tgc ctt gcc aac cag gcc gac ctg gac gcc Arg Asn Val Leu Lys Gly Cys Leu Ala Asn Gln Ala Asp Leu Asp Ala			864
275	280	285	
gag tgg agg aac ctc ctg gac tcc atg gtg ctc atc acc gac aag ttc Glu Trp Arg Asn Leu Leu Asp Ser Met Val Leu Ile Thr Asp Lys Phe			912
290	295	300	
tgg ggt aca tcg ggt gtg gag agt gtc atc ggc agc gtg cac acg tgg Trp Gly Thr Ser Gly Val Glu Ser Val Ile Gly Ser Val His Thr Trp			960
305	310	315	320
ctg gcg gag gcc atc aac gcc ctc cag gac aac agg gac acg ctc acg Leu Ala Glu Ala Ile Asn Ala Leu Gln Asp Asn Arg Asp Thr Leu Thr			1008

325	330	335	
gcc aag gtc atc cag ggc tgc ggg aac ccc aag gtc aac ccc cag ggc Ala Lys Val Ile Gln Gly Cys Gly Asn Pro Lys Val Asn Pro Gln Gly			1056
340	345	350	
cct ggg cct gag gag aag cgg cgc cgg ggc aag ctg gcc ccc cgg gag Pro Gly Pro Glu Glu Lys Arg Arg Arg Gly Lys Leu Ala Pro Arg Glu			1104
355	360	365	
agg cca cct tca ggc acg ctg gag aag ctg gtc tct gaa gcc aag gcc Arg Pro Pro Ser Gly Thr Leu Glu Lys Leu Val Ser Glu Ala Lys Ala			1152
370	375	380	
cag ctc cgc gac gtc cag gac ttc tgg atc agc ctc cca ggg aca ctg Gln Leu Arg Asp Val Gln Asp Phe Trp Ile Ser Leu Pro Gly Thr Leu			1200
385	390	395	400
tgc agt gag aag atg gcc ctg agc act gcc agt gat gac cgc tgc tgg Cys Ser Glu Lys Met Ala Leu Ser Thr Ala Ser Asp Asp Arg Cys Trp			1248
405	410	415	
aac ggg atg gcc aga ggc cgg tac ctc ccc gag gtc atg ggt gac ggc Asn Gly Met Ala Arg Gly Arg Tyr Leu Pro Glu Val Met Gly Asp Gly			1296
420	425	430	
ctg gcc aac cag atc aac aac ccc gag gtg gag gtg gac atc acc aag Leu Ala Asn Gln Ile Asn Asn Pro Glu Val Glu Val Asp Ile Thr Lys			1344
435	440	445	
cgg gac atg acc atc cgg cag cag atc atg cag ctg aag atc atg acc Pro Asp Met Thr Ile Arg Gln Gln Ile Met Gln Leu Lys Ile Met Thr			1392
450	455	460	
aac cgg ctg cgc agc gcc tac aac ggc aac gac gtg gac ttc cag gac Asn Arg Leu Arg Ser Ala Tyr Asn Gly Asn Asp Val Asp Phe Gln Asp			1440
465	470	475	480
gcc agt gac gac ggc agc ggc tgc ggc agc ggt gat ggc tgt ctg gat Ala Ser Asp Asp Gly Ser Gly Ser Gly Asp Gly Cys Leu Asp			1488
485	490	495	
gac ctc tgc ggc cgg aag gtc agc agg aag agc tcc agc tcc cgg acg Asp Leu Cys Gly Arg Lys Val Ser Arg Lys Ser Ser Ser Arg Thr			1536
500	505	510	
ccc ttg acc cat gcc ctc cca ggc ctg tca gag cag gaa gga cag aag Pro Leu Thr His Ala Leu Pro Gly Leu Ser Glu Gln Glu Gly Gln Lys			1584

515

520

525

acc tcg gct gcc agc tgc ccc cag ccc ccg acc ttc ctc ctg ccc ctc  
Thr Ser Ala Ala Ser Cys Pro Gln Pro Pro Thr Phe Leu Leu Pro Leu  
530 535 540

ctc ctc ttc ctg gcc ctt aca gta gcc agg ccc egg tgg cgg taa  
Leu Leu Phe Leu Ala Leu Thr Val Ala Arg Pro Arg Trp Arg  
545 550 555

<210> 11  
<211> 558  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 11  
Met Glu Leu Arg Ala Arg Gly Trp Trp Leu Leu Cys Ala Ala Ala  
1 5 10 15

Leu Val Ala Cys Ala Arg Gly Asp Pro Ala Ser Lys Ser Arg Ser Cys  
20 25 30

Gly Glu Val Arg Gln Ile Tyr Gly Ala Lys Gly Phe Ser Leu Ser Asp  
35 40 45

Val Pro Gln Ala Glu Ile Ser Gly Glu His Leu Arg Ile Cys Pro Gln  
50 55 60

Gly Tyr Thr Cys Cys Thr Ser Glu Met Glu Glu Asn Leu Ala Asn Arg  
65 70 75 80

Ser His Ala Glu Leu Glu Thr Ala Leu Arg Asp Ser Ser Arg Val Leu  
85 90 95

Gln Ala Met Leu Ala Thr Gln Leu Arg Ser Phe Asp Asp His Phe Gln  
100 105 110

His Leu Leu Asn Asp Ser Glu Arg Thr Leu Gln Ala Thr Phe Pro Gly  
115 120 125

Ala Phe Gly Glu Leu Tyr Thr Gln Asn Ala Arg Ala Phe Arg Asp Leu  
130 135 140

Tyr Ser Glu Leu Arg Leu Tyr Tyr Arg Gly Ala Asn Leu His Leu Glu  
145 150 155 160

Glu Thr Leu Ala Glu Phe Trp Ala Arg Leu Leu Glu Arg Leu Phe Lys  
165 170 175

Gln Leu His Pro Gln Leu Leu Leu Pro Asp Asp Tyr Leu Asp Cys Leu  
180 185 190

Gly Lys Gln Ala Glu Ala Leu Arg Pro Phe Gly Glu Ala Pro Arg Glu  
195 200 205

Leu Arg Leu Arg Ala Thr Arg Ala Phe Val Ala Ala Arg Ser Phe Val  
210 215 220

Gln Gly Leu Gly Val Ala Ser Asp Val Val Arg Lys Val Ala Gln Val  
225 230 235 240

Pro Leu Gly Pro Glu Cys Ser Arg Ala Val Met Lys Leu Val Tyr Cys  
245 250 255

Ala His Cys Leu Gly Val Pro Gly Ala Arg Pro Cys Pro Asp Tyr Cys  
260 265 270

Arg Asn Val Leu Lys Gly Cys Leu Ala Asn Gln Ala Asp Leu Asp Ala  
275 280 285

Glu Trp Arg Asn Leu Leu Asp Ser Met Val Leu Ile Thr Asp Lys Phe  
290 295 300

Trp Gly Thr Ser Gly Val Glu Ser Val Ile Gly Ser Val His Thr Trp  
305 310 315 320

Leu Ala Glu Ala Ile Asn Ala Leu Gln Asp Asn Arg Asp Thr Leu Thr  
325 330 335

Ala Lys Val Ile Gln Gly Cys Gly Asn Pro Lys Val Asn Pro Gln Gly  
340 345 350

Pro Gly Pro Glu Glu Lys Arg Arg Arg Gly Lys Leu Ala Pro Arg Glu  
355 360 365

Arg Pro Pro Ser Gly Thr Leu Glu Lys Leu Val Ser Glu Ala Lys Ala  
370 375 380

Gln Leu Arg Asp Val Gln Asp Phe Trp Ile Ser Leu Pro Gly Thr Leu  
385 390 395 400

Cys Ser Glu Lys Met Ala Leu Ser Thr Ala Ser Asp Asp Arg Cys Trp  
405 410 415

Asn Gly Met Ala Arg Gly Arg Tyr Leu Pro Glu Val Met Gly Asp Gly  
420 425 430

Leu Ala Asn Gln Ile Asn Asn Pro Glu Val Glu Val Asp Ile Thr Lys  
435 440 445

Pro Asp Met Thr Ile Arg Gln Gln Ile Met Gln Leu Lys Ile Met Thr  
450 455 460

Asn Arg Leu Arg Ser Ala Tyr Asn Gly Asn Asp Val Asp Phe Gln Asp  
465 470 475 480

Ala Ser Asp Asp Gly Ser Gly Ser Gly Asp Gly Cys Leu Asp  
485 490 495

Asp Leu Cys Gly Arg Lys Val Ser Arg Lys Ser Ser Ser Arg Thr  
500 505 510

Pro Leu Thr His Ala Leu Pro Gly Leu Ser Glu Gln Glu Gly Gln Lys  
515 520 525

Thr Ser Ala Ala Ser Cys Pro Gln Pro Pro Thr Phe Leu Leu Pro Leu  
530 535 540

Leu Leu Phe Leu Ala Leu Thr Val Ala Arg Pro Arg Trp Arg  
545 550 555

<210> 12

<211> 369

<212> DNA

<213> *Mus musculus*

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(366)

<400> 12

atg aag cct ttt cat act gcc ctc tcc ttc ctc att ctt aca act gct 48  
Met Lys Pro Phe His Thr Ala Leu Ser Phe Leu Ile Leu Thr Thr Ala  
1 5 10 15

ctt gga atc tgg gcc cag atc aca cat gca aca gag aca aaa gaa gtc 96  
Leu Gly Ile Trp Ala Gln Ile Thr His Ala Thr Glu Thr Lys Glu Val  
20 25 30

cag agc agt ctg aag gca cag caa ggg ctt gaa att gaa atg ttt cac 144  
Gln Ser Ser Leu Lys Ala Gln Gln Gly Leu Glu Ile Glu Met Phe His  
35 40 45

atg ggc ttt caa gac tct tca gat tgc tgc ctg tcc tat aac tca cgg 192  
Met Gly Phe Gln Asp Ser Ser Asp Cys Cys Leu Ser Tyr Asn Ser Arg  
50 55 60

att cag tgt tca aga ttt ata ggt tat ttt ccc acc agt ggt ggg tgt 240  
Ile Gln Cys Ser Arg Phe Ile Gly Tyr Phe Pro Thr Ser Gly Gly Cys  
65 70 75 80

acc agg ccg ggc atc atc ttt atc agc aag agg ggg ttc cag gtc tgt 288  
Thr Arg Pro Gly Ile Ile Phe Ile Ser Lys Arg Gly Phe Gln Val Cys  
85 90 95

gcc aac ccc agt gat cgg aga gtt cag aga tgt att gaa aga ttg gag 336

Ala Asn Pro Ser Asp Arg Arg Val Gln Arg Cys Ile Glu Arg Leu Glu  
100 105 110

caa aac tca caa cca cgg acc tac aaa caa taa 369  
Gln Asn Ser Gln Pro Arg Thr Tyr Lys Gln  
115 120

<210> 13  
<211> 122  
<212> PRT  
<213> Mus musculus

<400> 13  
Met Lys Pro Phe His Thr Ala Leu Ser Phe Leu Ile Leu Thr Thr Ala  
1 5 10 15

Leu Gly Ile Trp Ala Gln Ile Thr His Ala Thr Glu Thr Lys Glu Val  
20 25 30

Gln Ser Ser Leu Lys Ala Gln Gln Gly Leu Glu Ile Glu Met Phe His  
35 40 45

Met Gly Phe Gln Asp Ser Ser Asp Cys Cys Leu Ser Tyr Asn Ser Arg  
50 55 60

Ile Gln Cys Ser Arg Phe Ile Gly Tyr Phe Pro Thr Ser Gly Gly Cys  
65 70 75 80

Thr Arg Pro Gly Ile Ile Phe Ile Ser Lys Arg Gly Phe Gln Val Cys  
85 90 95

Ala Asn Pro Ser Asp Arg Arg Val Gln Arg Cys Ile Glu Arg Leu Glu  
100 105 110

Gln Asn Ser Gln Pro Arg Thr Tyr Lys Gln  
115 120

<210> 14  
<211> 1223

<212> DNA  
<213> Mus musculus

<220>

<221> CDS

<222> (84)..(1121)

<400> 14

gtgaccggaa agggagcccc gtggtagagg tgaccggagc tgagcatttc agatctgctt 60

agtaaacccgg tgtatcgccc acc atg ttg gct gca agg ctt gtg tgt ctc cg 113  
Met Leu Ala Ala Arg Leu Val Cys Leu Arg  
1 5 10

aca cta cct tcc agg gtt ttc cag ccc act ttc atc acc aag gcc tct 161  
Thr Leu Pro Ser Arg Val Phe Gln Pro Thr Phe Ile Thr Lys Ala Ser  
15 20 25

cca ctt gtg aag aat tcc atc aca aag aac caa tgg ctc gta aca ccc 209  
Pro Leu Val Lys Asn Ser Ile Thr Lys Asn Gln Trp Leu Val Thr Pro  
30 35 40

agc agg gaa tat gct acc aag aca aga att agg act cac cgt ggg aaa 257  
Ser Arg Glu Tyr Ala Thr Lys Thr Arg Ile Arg Thr His Arg Gly Lys  
45 50 55

act gga caa gaa ctg aaa gag gca gcc ttg gaa cca tca atg gaa aaa 305  
Thr Gly Gln Glu Leu Lys Glu Ala Ala Leu Glu Pro Ser Met Glu Lys  
60 65 70

atc ttt aaa atc gat caa atg gga agg tgg ttt gtt gct gga gga gca 353  
Ile Phe Lys Ile Asp Gln Met Gly Arg Trp Phe Val Ala Gly Gly Ala  
75 80 85 90

gct gtt ggt ctt gga gcg ctc tgc tac tat ggc ttg gga atg tct aat 401  
Ala Val Gly Leu Gly Ala Leu Cys Tyr Tyr Gly Leu Gly Met Ser Asn  
95 100 105

gag att gga gct atc gaa aag gct gta att tgg cct cag tat gta aag 449  
Glu Ile Gly Ala Ile Glu Lys Ala Val Ile Trp Pro Gln Tyr Val Lys  
110 115 120

gat aga att cat tct act tac atg tac tta gca gga agg tat tgt tta 497  
Asp Arg Ile His Ser Thr Tyr Met Tyr Leu Ala Gly Arg Tyr Cys Leu  
125 130 135

aca gct ttg tct gcc ttg gca gta gcc aga aca cct gct ctc atg aac 545  
Thr Ala Leu Ser Ala Leu Ala Val Ala Arg Thr Pro Ala Leu Met Asn

140	145	150			
ttc atg atg aca ggc tct tgg gtc aca att ggt gcg acc ttt gca gcc Phe Met Met Thr Gly Ser Trp Val Thr Ile Gly Ala Thr Phe Ala Ala	155	160	170	593	
atg att gga gct gga atg ctt gta cac tca ata tca tat gag cag agc Met Ile Gly Ala Gly Met Leu Val His Ser Ile Ser Tyr Glu Gln Ser	175	180	185	641	
cca ggc cca aag cat ctg gct tgg atg ctg cat tct ggt gtc atg ggt Pro Gly Pro Lys His Leu Ala Trp Met Leu His Ser Gly Val Met Gly	190	195	200	689	
gca gtt gtg gct cct ctg acg atc tta ggg ggg cct ctt ctc ctg aga Ala Val Val Ala Pro Leu Thr Ile Leu Gly Gly Pro Leu Leu Leu Arg	205	210	215	737	
gcc gca tgg tac acc gct ggt att gtg gga ggc ctc tct act gtg gcc Ala Ala Trp Tyr Thr Ala Gly Ile Val Gly Gly Leu Ser Thr Val Ala	220	225	230	785	
atg tgt gcg cct agt gag aag ttt ctg aac atg gga gca ccc ctg gga Met Cys Ala Pro Ser Glu Lys Phe Leu Asn Met Gly Ala Pro Leu Gly	235	240	245	250	833
gtg ggc ctg ggt ctt gtc ttt gcg tct tct ctg ggg tct atg ttt ctt Val Gly Leu Gly Leu Val Phe Ala Ser Ser Leu Gly Ser Met Phe Leu	255	260	265	881	
ccc cct acc tct gtg gct ggt gcc act ctg tac tca gtg gca atg tat Pro Pro Thr Ser Val Ala Gly Ala Thr Leu Tyr Ser Val Ala Met Tyr	270	275	280	929	
ggt gga tta gtt ctt ttc agc atg ttc ctt ctg tat gat act cag aaa Gly Gly Leu Val Leu Phe Ser Met Phe Leu Leu Tyr Asp Thr Gln Lys	285	290	295	977	
gta atc aaa cgt gca gaa ata aca ccc atg tat gga gct caa aag tat Val Ile Lys Arg Ala Glu Ile Thr Pro Met Tyr Gly Ala Gln Lys Tyr	300	305	310	1025	
gat ccc atc aat tcg atg ttg aca atc tac atg gat aca tta aat ata Asp Pro Ile Asn Ser Met Leu Thr Ile Tyr Met Asp Thr Leu Asn Ile	315	320	325	330	1073
ttt atg cga gtt gca act atg cta gca act gga agc aac aga aag aaa Phe Met Arg Val Ala Thr Met Leu Ala Thr Gly Ser Asn Arg Lys Lys				1121	

335

340

345

tgaagtaacc gcttgtatg tctccgctca ctgatgtctt gcttgtttaa taggagcaga 1181  
tagtcattac agtttgcattc agcagaattc ccgcgcggcc gc 1223

<210> 15

<211> 346

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 15

Met Leu Ala Ala Arg Leu Val Cys Leu Arg Thr Leu Pro Ser Arg Val  
1 5 10 15

Phe Gln Pro Thr Phe Ile Thr Lys Ala Ser Pro Leu Val Lys Asn Ser  
20 25 30

Ile Thr Lys Asn Gln Trp Leu Val Thr Pro Ser Arg Glu Tyr Ala Thr  
35 40 45

Lys Thr Arg Ile Arg Thr His Arg Gly Lys Thr Gly Gln Glu Leu Lys  
50 55 60

Glu Ala Ala Leu Glu Pro Ser Met Glu Lys Ile Phe Lys Ile Asp Gln  
65 70 75 80

Met Gly Arg Trp Phe Val Ala Gly Gly Ala Ala Val Gly Leu Gly Ala  
85 90 95

Leu Cys Tyr Tyr Gly Leu Gly Met Ser Asn Glu Ile Gly Ala Ile Glu  
100 105 110

Lys Ala Val Ile Trp Pro Gln Tyr Val Lys Asp Arg Ile His Ser Thr  
115 120 125

Tyr Met Tyr Leu Ala Gly Arg Tyr Cys Leu Thr Ala Leu Ser Ala Leu  
130 135 140

Ala Val Ala Arg Thr Pro Ala Leu Met Asn Phe Met Met Thr Gly Ser  
145 150 155 160

Trp Val Thr Ile Gly Ala Thr Phe Ala Ala Met Ile Gly Ala Gly Met  
165 170 175

Leu Val His Ser Ile Ser Tyr Glu Gln Ser Pro Gly Pro Lys His Leu  
180 185 190

Ala Trp Met Leu His Ser Gly Val Met Gly Ala Val Val Ala Pro Leu  
195 200 205

Thr Ile Leu Gly Gly Pro Leu Leu Leu Arg Ala Ala Trp Tyr Thr Ala  
210 215 220

Gly Ile Val Gly Gly Leu Ser Thr Val Ala Met Cys Ala Pro Ser Glu  
225 230 235 240

Lys Phe Leu Asn Met Gly Ala Pro Leu Gly Val Gly Leu Gly Leu Val  
245 250 255

Phe Ala Ser Ser Leu Gly Ser Met Phe Leu Pro Pro Thr Ser Val Ala  
260 265 270

Gly Ala Thr Leu Tyr Ser Val Ala Met Tyr Gly Gly Leu Val Leu Phe  
275 280 285

Ser Met Phe Leu Leu Tyr Asp Thr Gln Lys Val Ile Lys Arg Ala Glu  
290 295 300

Ile Thr Pro Met Tyr Gly Ala Gln Lys Tyr Asp Pro Ile Asn Ser Met  
305 310 315 320

Leu Thr Ile Tyr Met Asp Thr Leu Asn Ile Phe Met Arg Val Ala Thr  
325 330 335

Met Leu Ala Thr Gly Ser Asn Arg Lys Lys  
340 345

<210> 16  
<211> 1038  
<212> DNA  
<213> Homo sapiens

<220>  
<221> CDS  
<222> (1)..(1035)

<400> 16  
atg ttg gct gca agg ctg gtg tgt ctc cgg aca cta cct tct agg gtt 48  
Met Leu Ala Ala Arg Leu Val Cys Leu Arg Thr Leu Pro Ser Arg Val  
1 5 10 15  
  
ttc cac cca gct ttc acc aag gcc tcc cct gtt gtg aag aat tcc atc 96  
Phe His Pro Ala Phe Thr Lys Ala Ser Pro Val Val Lys Asn Ser Ile  
20 25 30  
  
acg aag aat caa tgg ctg tta aca cct agc agg gaa tat gcc acc aaa 144  
Thr Lys Asn Gln Trp Leu Leu Thr Pro Ser Arg Glu Tyr Ala Thr Lys  
35 40 45  
  
aca aga att ggg atc cgg cgt ggg aga act ggc caa gaa ctc aaa gag 192  
Thr Arg Ile Gly Ile Arg Arg Gly Arg Thr Gly Gln Glu Leu Lys Glu  
50 55 60  
  
gca gca ttg gaa cca tcg atg gaa aaa ata ttt aaa att gat cag atg 240  
Ala Ala Leu Glu Pro Ser Met Glu Lys Ile Phe Lys Ile Asp Gln Met  
65 70 75 80  
  
gga aga tgg ttt gtt gct gga ggg gct gct gtt ggt ctt gga gca ttg 288  
Gly Arg Trp Phe Val Ala Gly Gly Ala Ala Val Gly Leu Gly Ala Leu  
85 90 95  
  
tgc tac tat ggc ttg gga ctg tct aat gag att gga gct att gaa aag 336  
Cys Tyr Tyr Gly Leu Gly Leu Ser Asn Glu Ile Gly Ala Ile Glu Lys  
100 105 110  
  
gct gta att tgg cct cag tat gtc aag gat aga att cat tcc acc tat 384  
Ala Val Ile Trp Pro Gln Tyr Val Lys Asp Arg Ile His Ser Thr Tyr  
115 120 125  
  
atg tac tta gca ggg agt att ggt tta aca gct ttg tct gcc ata gca 432

Met Tyr Leu Ala Gly Ser Ile Gly Leu Thr Ala Leu Ser Ala Ile Ala			
130	135	140	
atc agc aga acg cct gtt ctc atg aac ttc atg atg aga ggc tct tgg			480
Ile Ser Arg Thr Pro Val Leu Met Asn Phe Met Met Arg Gly Ser Trp			
145	150	155	160
gtg aca att ggt gtg acc ttt gca gcc atg gtt gga gct gga atg ctg			528
Val Thr Ile Gly Val Thr Phe Ala Ala Met Val Gly Ala Gly Met Leu			
165	170	175	
gta cga tca ata cca tat gac cag agc cca ggc cca aag cat ctt gct			576
Val Arg Ser Ile Pro Tyr Asp Gln Ser Pro Gly Pro Lys His Leu Ala			
180	185	190	
tgg ttg cta cat tct ggt gtg atg ggt gca gtg gtg gct cct ctg aca			624
Trp Leu Leu His Ser Gly Val Met Gly Ala Val Val Ala Pro Leu Thr			
195	200	205	
ata tta ggg ggt cct ctt ctc atc aga gct gca tgg tac aca gct ggc			672
Ile Leu Gly Gly Pro Leu Leu Ile Arg Ala Ala Trp Tyr Thr Ala Gly			
210	215	220	
att gtg gga ggc ctc tcc act gtg gcc atg tgt ggc ccc agt gaa aag			720
Ile Val Gly Gly Leu Ser Thr Val Ala Met Cys Ala Pro Ser Glu Lys			
225	230	235	240
ttt ctg aac atg ggt gca ccc ctg gga gtg ggc ctg ggt ctc gtc ttt			768
Phe Leu Asn Met Gly Ala Pro Leu Gly Val Gly Leu Gly Leu Val Phe			
245	250	255	
gtg tcc tca ttg gga tct atg ttt ctt cca cct acc acc gtg gct ggt			816
Val Ser Ser Leu Gly Ser Met Phe Leu Pro Pro Thr Val Ala Gly			
260	265	270	
gcc act ctt tac tca gtg gca atg tac ggt gga tta gtt ctt ttc agc			864
Ala Thr Leu Tyr Ser Val Ala Met Tyr Gly Gly Leu Val Leu Phe Ser			
275	280	285	
atg ttc ctt ctg tat gat acc cag aaa gta atc aag cgt gca gaa gta			912
Met Phe Leu Leu Tyr Asp Thr Gln Lys Val Ile Lys Arg Ala Glu Val			
290	295	300	
tca cca atg tat gga gtt caa aaa tat gat ccc att aac tgg atg ctg			960
Ser Pro Met Tyr Gly Val Gln Lys Tyr Asp Pro Ile Asn Ser Met Leu			
305	310	315	320
agt atc tac atg gat aca tta aat ata ttt atg cga gtt gca act atg			1008

Ser Ile Tyr Met Asp Thr Leu Asn Ile Phe Met Arg Val Ala Thr Met  
325 330 335

ctg gca act gga ggc aac aga aag aaa tga 1038  
Leu Ala Thr Gly Gly Asn Arg Lys Lys  
340 345

<210> 17  
<211> 345  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 17  
Met Leu Ala Ala Arg Leu Val Cys Leu Arg Thr Leu Pro Ser Arg Val  
1 5 10 15

Phe His Pro Ala Phe Thr Lys Ala Ser Pro Val Val Lys Asn Ser Ile  
20 25 30

Thr Lys Asn Gln Trp Leu Leu Thr Pro Ser Arg Glu Tyr Ala Thr Lys  
35 40 45

Thr Arg Ile Gly Ile Arg Arg Gly Arg Thr Gly Gln Glu Leu Lys Glu  
50 55 60

Ala Ala Leu Glu Pro Ser Met Glu Lys Ile Phe Lys Ile Asp Gln Met  
65 70 75 80

Gly Arg Trp Phe Val Ala Gly Gly Ala Ala Val Gly Leu Gly Ala Leu  
85 90 95

Cys Tyr Tyr Gly Leu Gly Leu Ser Asn Glu Ile Gly Ala Ile Glu Lys  
100 105 110

Ala Val Ile Trp Pro Gln Tyr Val Lys Asp Arg Ile His Ser Thr Tyr  
115 120 125

Met Tyr Leu Ala Gly Ser Ile Gly Leu Thr Ala Leu Ser Ala Ile Ala  
130 135 140

Ile Ser Arg Thr Pro Val Leu Met Asn Phe Met Met Arg Gly Ser Trp  
145 150 155 160

Val Thr Ile Gly Val Thr Phe Ala Ala Met Val Gly Ala Gly Met Leu  
165 170 175

Val Arg Ser Ile Pro Tyr Asp Gln Ser Pro Gly Pro Lys His Leu Ala  
180 185 190

Trp Leu Leu His Ser Gly Val Met Gly Ala Val Val Ala Pro Leu Thr  
195 200 205

Ile Leu Gly Gly Pro Leu Leu Ile Arg Ala Ala Trp Tyr Thr Ala Gly  
210 215 220

Ile Val Gly Gly Leu Ser Thr Val Ala Met Cys Ala Pro Ser Glu Lys  
225 230 235 240

Phe Leu Asn Met Gly Ala Pro Leu Gly Val Gly Leu Gly Leu Val Phe  
245 250 255

Val Ser Ser Leu Gly Ser Met Phe Leu Pro Pro Thr Thr Val Ala Gly  
260 265 270

Ala Thr Leu Tyr Ser Val Ala Met Tyr Gly Gly Leu Val Leu Phe Ser  
275 280 285

Met Phe Leu Leu Tyr Asp Thr Gln Lys Val Ile Lys Arg Ala Glu Val  
290 295 300

Ser Pro Met Tyr Gly Val Gln Lys Tyr Asp Pro Ile Asn Ser Met Leu  
305 310 315 320

Ser Ile Tyr Met Asp Thr Leu Asn Ile Phe Met Arg Val Ala Thr Met  
325 330 335

Leu Ala Thr Gly Gly Asn Arg Lys Lys  
340 345

<210> 18

<211> 447

<212> DNA

<213> Mus musculus

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(444)

<400> 18

atg agc acc tcg tct gcg cgg cct gca gtc ctg gcc ctt gcc ggg ctg 48  
Met Ser Thr Ser Ser Ala Arg Pro Ala Val Leu Ala Leu Ala Gly Leu  
1 5 10 15

gct ctg ctc ctt ctg ctg tgc ctg ggt cca gat ggc ata agt gga aac 96  
Ala Leu Leu Leu Leu Cys Leu Gly Pro Asp Gly Ile Ser Gly Asn  
20 25 30

aaa ctc aag aag atg ctc cag aaa cga gaa gga cct gtc ccg tca aag 144  
Lys Leu Lys Lys Met Leu Gln Lys Arg Glu Gly Pro Val Pro Ser Lys  
35 40 45

act aat gta gct gta gcc gag aac aca gca aag gaa ttc cta ggt ggc 192  
Thr Asn Val Ala Val Ala Glu Asn Thr Ala Lys Glu Phe Leu Gly Gly  
50 55 60

ctg aag cgt gcc aaa cga cag ctg tgg gac cgt acg cgg cct gag gta 240  
Leu Lys Arg Ala Lys Arg Gln Leu Trp Asp Arg Thr Arg Pro Glu Val  
65 70 75 80

cag cag tgg tac cag cag ttc ctc tac atg ggc ttt gat gag gct aaa 288  
Gln Gln Trp Tyr Gln Gln Phe Leu Tyr Met Gly Phe Asp Glu Ala Lys  
85 90 95

ttt gaa gat gat gtc aac tat tgg cta aac aga aat cga aac ggc cat 336  
Phe Glu Asp Asp Val Asn Tyr Trp Leu Asn Arg Asn Arg Asn Gly His  
100 105 110

gac tac tat ggt gac tac tac cag cgt cat tat gat gaa gat gct gcc 384  
Asp Tyr Tyr Gly Asp Tyr Tyr Gln Arg His Tyr Asp Glu Asp Ala Ala  
115 120 125

att ggt ccc cac agc cgg gaa agc ttc agg cat gga gcc agt gtg aac	432		
Ile Gly Pro His Ser Arg Glu Ser Phe Arg His Gly Ala Ser Val Asn			
130	135	140	
tat gat gac tat taa	447		
Tyr Asp Asp Tyr			
145			
<210> 19			
<211> 148			
<212> PRT			
<213> Mus musculus			
<400> 19			
Met Ser Thr Ser Ser Ala Arg Pro Ala Val Leu Ala Leu Ala Gly Leu			
1	5	10	15
Ala Leu Leu Leu Leu Leu Cys Leu Gly Pro Asp Gly Ile Ser Gly Asn			
20	25	30	
Lys Leu Lys Lys Met Leu Gln Lys Arg Glu Gly Pro Val Pro Ser Lys			
35	40	45	
Thr Asn Val Ala Val Ala Glu Asn Thr Ala Lys Glu Phe Leu Gly Gly			
50	55	60	
Leu Lys Arg Ala Lys Arg Gln Leu Trp Asp Arg Thr Arg Pro Glu Val			
65	70	75	80
Gln Gln Trp Tyr Gln Gln Phe Leu Tyr Met Gly Phe Asp Glu Ala Lys			
85	90	95	
Phe Glu Asp Asp Val Asn Tyr Trp Leu Asn Arg Asn Arg Asn Gly His			
100	105	110	
Asp Tyr Tyr Gly Asp Tyr Tyr Gln Arg His Tyr Asp Glu Asp Ala Ala			
115	120	125	
Ile Gly Pro His Ser Arg Glu Ser Phe Arg His Gly Ala Ser Val Asn			

130

135

140

Tyr Asp Asp Tyr

145

&lt;210&gt; 20

&lt;211&gt; 447

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; CDS

&lt;222&gt; (1)..(444)

&lt;400&gt; 20

atg	gct	gcc	tcc	ccc	gct	cgg	cct	gct	gtc	ctg	gcc	ctg	acc	ggg	ctg		48
Met	Ala	Ala	Ser	Pro	Ala	Arg	Pro	Ala	Val	Leu	Ala	Leu	Thr	Gly	Leu		
1																15	

gct	ctg	ctc	ctg	ctc	ctg	tgc	tgg	ggc	cca	ggt	ggc	ata	agt	gga	aat		96
Ala	Leu	Leu	Leu	Leu	Leu	Cys	Trp	Gly	Pro	Gly	Gly	Ile	Ser	Gly	Asn		
20																30	

aaa	ctc	aag	ctg	atg	ctt	caa	aaa	cga	gaa	gca	cct	gtt	cca	act	aag		144
Lys	Leu	Lys	Leu	Met	Leu	Gln	Lys	Arg	Glu	Ala	Pro	Val	Pro	Thr	Lys		
35																45	

act	aaa	gtg	gcc	gtt	gat	gag	aat	aaa	gcc	aaa	gaa	ttc	ctt	ggc	agc		192
Thr	Lys	Val	Ala	Val	Asp	Glu	Asn	Lys	Ala	Lys	Glu	Phe	Leu	Gly	Ser		
50																60	

ctg	aag	cgc	cag	aag	cgg	cag	ctg	tgg	gac	cgg	act	cgg	ccc	gag	gtg		240
Leu	Lys	Arg	Gln	Lys	Arg	Gln	Leu	Trp	Asp	Arg	Thr	Arg	Pro	Glu	Val		
65																80	

cag	cag	tgg	tac	cag	cag	ttt	ctc	tac	atg	ggc	ttt	gac	gaa	gct	aaa		288
Gln	Gln	Trp	Tyr	Gln	Gln	Phe	Leu	Tyr	Met	Gly	Phe	Asp	Glu	Ala	Lys		
85																95	

ttt	gaa	gat	gac	atc	acc	tat	tgg	ctt	aac	aga	gat	cga	aat	gga	cat		336
Phe	Glu	Asp	Asp	Ile	Thr	Tyr	Trp	Leu	Asn	Arg	Asp	Arg	Asn	Gly	His		
100																110	

gaa	tac	tat	ggc	gat	tac	tac	caa	cgt	cac	tat	gat	gaa	gac	tct	gca		384
Glu	Tyr	Tyr	Gly	Asp	Tyr	Tyr	Gln	Arg	His	Tyr	Asp	Glu	Asp	Ser	Ala		
115																125	

att ggt ccc cgg agc ccc tac ggc ttt agg cat gga gcc agc gtc aac	432		
Ile Gly Pro Arg Ser Pro Tyr Gly Phe Arg His Gly Ala Ser Val Asn			
130	135	140	
tac gat gac tac taa	447		
Tyr Asp Asp Tyr			
145			
<210> 21			
<211> 148			
<212> PRT			
<213> Homo sapiens			
<400> 21			
Met Ala Ala Ser Pro Ala Arg Pro Ala Val Leu Ala Leu Thr Gly Leu			
1	5	10	15
Ala Leu Leu Leu Leu Cys Trp Gly Pro Gly Gly Ile Ser Gly Asn			
20	25	30	
Lys Leu Lys Leu Met Leu Gln Lys Arg Glu Ala Pro Val Pro Thr Lys			
35	40	45	
Thr Lys Val Ala Val Asp Glu Asn Lys Ala Lys Glu Phe Leu Gly Ser			
50	55	60	
Leu Lys Arg Gln Lys Arg Gln Leu Trp Asp Arg Thr Arg Pro Glu Val			
65	70	75	80
Gln Gln Trp Tyr Gln Gln Phe Leu Tyr Met Gly Phe Asp Glu Ala Lys			
85	90	95	
Phe Glu Asp Asp Ile Thr Tyr Trp Leu Asn Arg Asp Arg Asn Gly His			
100	105	110	
Glu Tyr Tyr Gly Asp Tyr Tyr Gln Arg His Tyr Asp Glu Asp Ser Ala			
115	120	125	

Ile Gly Pro Arg Ser Pro Tyr Gly Phe Arg His Gly Ala Ser Val Asn  
130 135 140

Tyr Asp Asp Tyr  
145

<210> 22  
<211> 3144  
<212> DNA  
<213> Mus musculus

<220>  
<221> CDS  
<222> (642)..(1370)

<400> 22  
ggccttatgg ccgggggtct gcatctccat cgaaaagtgc gctggccaca tcccttcggc 60  
ctccgggcag tttctgtct cccttagctc aggcagcgg 120  
tggggagag agccctggga gcagcgactg gaccggaca ccaagaagag agtggacg 180  
ccccctcgact aggaatcgct ctcgcaggcg gagacccagc atctcagcgc ctgcggcgc 240  
gtttgcccgg ccgcgcgcctt ttgttaggcgc ccgcgcgc 300  
cggacccttc tgcagccggc ggaatcctaa agctgccaag agctccggc ggtgtcg 360  
aaacttttc cgagcccacg tgctgaccaa acagccggc tcgttccag agcctggcat 420  
ggagcgccgc gcctaggcac gccgtgcagc ccgagagacg cgagcgacg gttcaccgtg 480  
gagggagaga tgctcatcga gccaattga tcattgcagc cccagggcag tgacatctgt 540  
ctctgagtcc tcccttaggag cgcgaccgc actgtctcc 600  
tcgacttttg agaggtgtct ctccccagcc cgaccgtcca g atg cgt ttt tgc ctc 656  
Met Arg Phe Cys Leu  
1 5

ttc tca ttt gcc ctc atc att ctg aac tgt atg gat tac agc cag tgc 704  
Phe Ser Phe Ala Leu Ile Ile Leu Asn Cys Met Asp Tyr Ser Gln Cys  
10 15 20

caa ggc aac cga tgg aga cgc aat aag cga gct agt tat gta tca aat 752  
Gln Gly Asn Arg Trp Arg Arg Asn Lys Arg Ala Ser Tyr Val Ser Asn

25	30	35	
ccc att tgc aag ggt tgc tct tgc aag gac aat ggt tgc agc Pro Ile Cys Lys Gly Cys Leu Ser Cys Ser Lys Asp Asn Gly Cys Ser			800
40	45	50	
cga tgt caa cag aag ttg ttc ttt ttc ctt cga aga gaa gga atg cgt Arg Cys Gln Gln Lys Leu Phe Phe Phe Leu Arg Arg Glu Gly Met Arg			848
55	60	65	
cag tat gga gag tgc ctg cat tcc tgc cca tca ggg tat tat gga cac Gln Tyr Gly Glu Cys Leu His Ser Cys Pro Ser Gly Tyr Tyr Gly His			896
70	75	80	85
cga gcc cca gat atg aac aga tgc gca cga tgc aga ata gaa aac tgc Arg Ala Pro Asp Met Asn Arg Cys Ala Arg Cys Arg Ile Glu Asn Cys			944
90	95	100	
gat tct tgc ttt agc aaa gac ttt tgc acg aag tgc aaa gta ggc ttt Asp Ser Cys Phe Ser Lys Asp Phe Cys Thr Lys Cys Lys Val Gly Phe			992
105	110	115	
tat ttg cat aga ggc cgc tgc ttt gat gaa tgc cca gat ggt ttt gca Tyr Leu His Arg Gly Arg Cys Phe Asp Glu Cys Pro Asp Gly Phe Ala			1040
120	125	130	
ccg tta gat gag act atg gaa tgc gta gaa ggt tgc gaa gtt ggt cat Pro Leu Asp Glu Thr Met Glu Cys Val Glu Gly Cys Glu Val Gly His			1088
135	140	145	
tgg agc gaa tgg gga acg tgc acg aga aac aac cgc acg tgc ttt gga ttt Trp Ser Glu Trp Gly Thr Cys Ser Arg Asn Asn Arg Thr Cys Gly Phe			1136
150	155	160	165
aaa tgg ggt ctg gaa acc aga aca cgg cag att gtt aaa aag cca gca Lys Trp Gly Leu Glu Thr Arg Thr Arg Gln Ile Val Lys Lys Pro Ala			1184
170	175	180	
aaa gac aca ata cca tgc acc att gcg gag tcc agg aga tgc aag Lys Asp Thr Ile Pro Cys Pro Thr Ile Ala Glu Ser Arg Arg Cys Lys			1232
185	190	195	
atg gcc atg agg cac tgc cca gga gga aag aga aca cca aag gca aaa Met Ala Met Arg His Cys Pro Gly Gly Lys Arg Thr Pro Lys Ala Lys			1280
200	205	210	
gag aag aga aac aag aag agg cgg aag ctg att gag aga gcc caa Glu Lys Arg Asn Lys Lys Arg Arg Lys Leu Ile Glu Arg Ala Gln			1328

215	220	225	
gag cag cac agc gtc ttc ctc	gtc	gtc	1370
got aca gac aga gtg aac caa			
Glu Gln His Ser Val Phe Leu Ala Thr Asp Arg Val Asn Gln			
230	235	240	
taaaatacaa gaaaatagctg	gggcatttg	aggtttctg	1430
ttttgttat	gttgggttt		
tgcaaaagtg cacaaggcta	ctctccagtc	cacactggtg	1490
gacagcattc	ctgatccct		
gaccagtatac	cattttcagt	aatgctgcag	1550
agggaggtgc	ccaagcatgg	actcagcg	
atttatgtt	tgatggaaat	ctggggcctg	1610
tgatggcagg	agcttgttga	gctgagtcag	
cgggagctga	tgcatactgta	ctcttgtat	1670
gagcacagtg	tgtcataaga	acctgtccct	
ggcacggtgg	accacacagga	ggcacaaggc	1730
tgtagatcac	caccagagaa	tgcacctgt	
ccttaittga	tggatggcaa	tgctaagcaa	1790
gcaagcactg	ttcacttgt	acttticattt	
ctcacactgt	gcactgtcaa	agacaaatgt	1850
gcatggaaaa	atgttttagtg	tcacctcatg	
gcgttctcag	catcagtgac	cttcaaacgg	1910
tcctacaatg	agactgtgtt	ctagctaggg	
gtatgttgt	gaaattcctg	ctacatttca	1970
tcattgtct	tcttagtgct	aacatgtaca	
gattctgctg		gattctgctg	
cgctacattc	aaagctcatt	actgtatatt	2030
tatgtttct	ctgtgttaaca	agttataacct	
gataagatgt	cacttgttt	ctagtgattc	2090
ttaaccatgg	ttaaccatgg	tctggtacat	
ggctattcta		ggctattcta	
gttttggaaa	ttaacaagtg	ttttgttgcc	2150
tcttgtttc	ttttgttcc	atcattttg	
gcgggggttg	ggtgggcttg	attctaaccg	2210
taagtatagg	ataagctagt	tttgtatata	
gagtcaaatg	actgatgtca	gaggatcagt	2270
gctgatagaa	cttccccagt	tcatgtcacg	
atacacacag	gcatgaggca	tcttgcac	2330
agagaaagca	agaagccaaa	tttctttga	
gtccccaaat	tcatgttca	tgaaatata	2390
ctgaaaacaa	gatttgggtg	tagttacttg	
tatttattat	acaatttcca	attacatttt	2450
tttcaaaact	caaaataacc	catgactttg	
agtgataggt	cacttggcaa	ttactgggaa	2510
agctgtgtc	actaagataa		
tgagagagaa	aatagaatgg	cttcgccccaa	2570
gtgagagcca	catcttacat	ttctctgttg	
aatcgaaatc	aactatatta	gaacagaagc	
ctgatagaag	ctttcttagtt	aacacacaca	2630

aggccatgg ttcaaaaaca tctttgtccc cttaggtcag tttgtcccta gattatgaat	2690
tggcagggttc taattgcatt atttccctgg ctgatccagg aaaaagttag aacaaaataa	2750
gttgcatagt tttaggaaa catccaaagc aaggcgaagc cttcccttgc cttgcattgg	2810
caaaaactacc tcttagcat ttatgttcat tcagaaacat cttgctgata tgtgttagatg	2870
ttttaagctt cattgtgaaa atattgtatgc aagataagcc atatatgaat gttgtattca	2930
acittagggc ttgaaattaa tcctaaagtg ttcacccttc tccatgtcta tttacactct	2990
gttcctattt actaaagaggg taggggtctc cttaatatca tacitcattt ttaataagtc	3050
aatgcttgtt atgtttcttgcgtgttgcattaaaactcaaa attggaaaaaa	3110
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaa	3144

<210> 23

<211> 243

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 23

Met Arg Phe Cys Leu Phe Ser Phe Ala Leu Ile Ile Leu Asn Cys Met			
1	5	10	15

Asp Tyr Ser Gln Cys Gln Gly Asn Arg Trp Arg Arg Asn Lys Arg Ala			
20	25	30	

Ser Tyr Val Ser Asn Pro Ile Cys Lys Gly Cys Leu Ser Cys Ser Lys			
35	40	45	

Asp Asn Gly Cys Ser Arg Cys Gln Gln Lys Leu Phe Phe Phe Leu Arg			
50	55	60	

Arg Glu Gly Met Arg Gln Tyr Gly Glu Cys Leu His Ser Cys Pro Ser			
65	70	75	80

Gly Tyr Tyr Gly His Arg Ala Pro Asp Met Asn Arg Cys Ala Arg Cys			
85	90	95	

Arg Ile Glu Asn Cys Asp Ser Cys Phe Ser Lys Asp Phe Cys Thr Lys  
100 105 110

Cys Lys Val Gly Phe Tyr Leu His Arg Gly Arg Cys Phe Asp Glu Cys  
115 120 125

Pro Asp Gly Phe Ala Pro Leu Asp Glu Thr Met Glu Cys Val Glu Gly  
130 135 140

Cys Glu Val Gly His Trp Ser Glu Trp Gly Thr Cys Ser Arg Asn Asn  
145 150 155 160

Arg Thr Cys Gly Phe Lys Trp Gly Leu Glu Thr Arg Thr Arg Gln Ile  
165 170 175

Val Lys Lys Pro Ala Lys Asp Thr Ile Pro Cys Pro Thr Ile Ala Glu  
180 185 190

Ser Arg Arg Cys Lys Met Ala Met Arg His Cys Pro Gly Gly Lys Arg  
195 200 205

Thr Pro Lys Ala Lys Glu Lys Arg Asn Lys Lys Arg Arg Lys Leu  
210 215 220

Ile Glu Arg Ala Gln Glu Gln His Ser Val Phe Leu Ala Thr Asp Arg  
225 230 235 240

Val Asn Gln

<210> 24  
<211> 843  
<212> DNA  
<213> *Mus musculus*

<220>  
<221> CDS

<222> (132)..(506)

<400> 24  
ggccattatg gccggggct ttcggcgcc gggagctgac cggccgtgtt cctctctcg 60  
cttcctctgc gccccgcgtc cccgcctcg cgaccggc tctcctggac tcggcgccgc 120  
caacctggc g atg ccc cgc tac gag ttg gct ttg att ctg aaa gcc atg 170  
Met Pro Arg Tyr Glu Leu Ala Leu Ile Leu Lys Ala Met  
1 5 10  
cgcgccgcca gag acc gct gct ttg aaa cgt aca ata gaa tcc ctg 218  
Arg Arg Pro Glu Thr Ala Ala Leu Lys Arg Thr Ile Glu Ser Leu  
15 20 25  
atg gac cga gga gcc ata gtg agg aac ttg gaa agc ctg ggt gag cgt 266  
Met Asp Arg Gly Ala Ile Val Arg Asn Leu Glu Ser Leu Gly Glu Arg  
30 35 40 45  
gcg ctc ccc tac agg atc tcg agt cac agc cag cag cac agc cga gga 314  
Ala Leu Pro Tyr Arg Ile Ser Ser His Ser Gln Gln His Ser Arg Gly  
50 55 60  
ggg tat ttc ctg gtg gat ttt tat gct ccg aca agt gct gtg gag aac 362  
Gly Tyr Phe Leu Val Asp Phe Tyr Ala Pro Thr Ser Ala Val Glu Asn  
65 70 75  
ata ctg gaa cac ttg gcg cga gac att gac gtg gtt aga cca aat att 410  
Ile Leu Glu His Leu Ala Arg Asp Ile Asp Val Val Arg Pro Asn Ile  
80 85 90  
gtg aaa cac cct ctg acc cag gaa gta aaa gag tgt gac ggc ata gtc 458  
Val Lys His Pro Leu Thr Gln Glu Val Lys Glu Cys Asp Gly Ile Val  
95 100 105  
cca gtc cca ctt gaa gaa aaa ctg tat tca aca aag agg agg aag aag 506  
Pro Val Pro Leu Glu Glu Lys Leu Tyr Ser Thr Lys Arg Arg Lys Lys  
110 115 120 125  
tgagaagatt caccagattc tggccttata tttaatccta agggcactat gggtgctgct 566  
aggttgttgt ctaggatact tttagccatg accattttgc tgcaggaggt agaaaactgct 626  
ggccgagacc tgccctgatg tctctgctga gatttcattcc cacttgtggg gtttgtcggg 686  
agtgggggtg ttcacagtac cactgttagcg tttccaagag caaaatgttt gtcattcaca 746  
cttggttgtc ttgcaaggct atatgaaaca ctgggagcag agtaataaac atgactttat 806

caacactgga aaaaaaaaaaaa aaaaaaaaaaaa aaaaaaaaa

843

<210> 25

<211> 125

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 25

Met Pro Arg Tyr Glu Leu Ala Leu Ile Leu Lys Ala Met Arg Arg Pro  
1 5 10 15

Glu Thr Ala Ala Ala Leu Lys Arg Thr Ile Glu Ser Leu Met Asp Arg  
20 25 30

Gly Ala Ile Val Arg Asn Leu Glu Ser Leu Gly Glu Arg Ala Leu Pro  
35 40 45

Tyr Arg Ile Ser Ser His Ser Gln Gln His Ser Arg Gly Gly Tyr Phe  
50 55 60

Leu Val Asp Phe Tyr Ala Pro Thr Ser Ala Val Glu Asn Ile Leu Glu  
65 70 75 80

His Leu Ala Arg Asp Ile Asp Val Val Arg Pro Asn Ile Val Lys His  
85 90 95

Pro Leu Thr Gln Glu Val Lys Glu Cys Asp Gly Ile Val Pro Val Pro  
100 105 110

Leu Glu Glu Lys Leu Tyr Ser Thr Lys Arg Arg Lys Lys  
115 120 125

<210> 26

<211> 2490

<212> DNA

<213> Mus musculus

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(2487)

<400> 26

atg aag ccg ccc ggc agc atc tcc cgg cgg ccg acc ctg acg ggt tgc 48

Met Lys Pro Pro Gly Ser Ile Ser Arg Arg Pro Thr Leu Thr Gly Cys

1 5 10 15

agc ctt ccc ggc gcc tcc tgc ggc ccc ggc cgc tgc ccc gcc ggc ccg 96

Ser Leu Pro Gly Ala Ser Cys Gly Pro Gly Arg Cys Pro Ala Gly Pro

20 25 30

gtg ccg gcc cgc gcg ccc tgc cgc ctg ctc ctc gtc ctt ctc ctg 144

Val Pro Ala Arg Ala Pro Pro Cys Arg Leu Leu Leu Val Leu Leu Leu

35 40 45

cta cct gcg ctc gcc acc tca tcc cgg ccc cgt gcc cgg ggg gcc oct 192

Leu Pro Ala Leu Ala Thr Ser Ser Arg Pro Arg Ala Arg Gly Ala Ala

50 55 60

gcg ccc agc gct ccg cac tgg aat gaa act gca gaa aaa acc ctg gga 240

Ala Pro Ser Ala Pro His Trp Asn Glu Thr Ala Glu Lys Thr Leu Gly

65 70 75 80

gtc ctg gca gat gaa gac aac aca ttg caa caa aat agc agc agc aga 288

Val Leu Ala Asp Glu Asp Asn Thr Leu Gln Gln Asn Ser Ser Arg

85 90 95

aat acc agc tac agc agt gca gtg caa aaa gaa atc aca ctg cct tca 336

Asn Thr Ser Tyr Ser Ser Ala Val Gln Lys Glu Ile Thr Leu Pro Ser

100 105 110

aga ctg gtg tat tac atc aac cag gac tca gaa agc ccc tat cat gtt 384

Arg Leu Val Tyr Tyr Ile Asn Gln Asp Ser Glu Ser Pro Tyr His Val

115 120 125

ctt gac aca aag gcc aga cac caa cag aaa cac aat aag gct gtg cat 432

Leu Asp Thr Lys Ala Arg His Gln Gln Lys His Asn Lys Ala Val His

130 135 140

ctg gcc cag gca agc ttc cag atc gaa gct ttc ggc tcc aag ttc att 480

Leu Ala Gln Ala Ser Phe Gln Ile Glu Ala Phe Gly Ser Lys Phe Ile

145 150 155 160

ctt gac ctc aca ctg aac aat ggt ttg cta tct tct gac tac gtg gag 528

Leu Asp Leu Thr Leu Asn Asn Gly Leu Leu Ser Ser Asp Tyr Val Glu

165 170 175

atc cac tat gaa gac ggg aag cag atg tac tct aag ggt gga gag cac Ile His Tyr Glu Asp Gly Lys Gln Met Tyr Ser Lys Gly Gly Glu His 180 185 190	576
tgt tac tac cac gga agc atc aga ggc gtc aag gat tcc agg gtg gct Cys Tyr Tyr His Gly Ser Ile Arg Gly Val Lys Asp Ser Arg Val Ala 195 200 205	624
cta tcg acc tgc aat gga ctc cat ggc atg ttt gag gat gac acc ttt Leu Ser Thr Cys Asn Gly Leu His Gly Met Phe Glu Asp Asp Thr Phe 210 215 220	672
gtg tat atg ata gag cct ctg gaa ctg act gat gat gag aaa agc aca Val Tyr Met Ile Glu Pro Leu Glu Leu Thr Asp Asp Glu Lys Ser Thr 225 230 235 240	720
ggc cga cgg cac ata atc cag aaa acc ttg gca gga cag tat tct aag Gly Arg Pro His Ile Ile Gln Lys Thr Leu Ala Gly Gln Tyr Ser Lys 245 250 255	768
cag atg aag aat ctc agc aca gat ggc agt gac cag tgg cct ttg cta Gln Met Lys Asn Leu Ser Thr Asp Gly Ser Asp Gln Trp Pro Leu Leu 260 265 270	816
cct gaa tta caa tgg ctg aga aga agg aaa aga gcg gtc aat cca tct Pro Glu Leu Gln Trp Leu Arg Arg Arg Lys Arg Ala Val Asn Pro Ser 275 280 285	864
cgt ggt gtg ttt gaa gaa atg aag tat ttg gag ctt atg att gtt aat Arg Gly Val Phe Glu Glu Met Lys Tyr Leu Glu Leu Met Ile Val Asn 290 295 300	912
gat cac aag acg tat aag aag cac cgc tct tct cac gcg cat acc aac Asp His Lys Thr Tyr Lys Lys His Arg Ser Ser His Ala His Thr Asn 305 310 315 320	960
aac ttc gca aag tct gtg gtc aac ctt gta gat tct att tac aag gaa Asn Phe Ala Lys Ser Val Val Asn Leu Val Asp Ser Ile Tyr Lys Glu 325 330 335	1008
cag ctc aac acc agg gtt gtc ctg gtg gct gtc gag acc tgg acc gag Gln Leu Asn Thr Arg Val Val Ala Val Glu Thr Trp Thr Glu 340 345 350	1056
aag gat cac att gac atc acc atc aac ccc gtg cag atg cta cat gac Lys Asp His Ile Asp Ile Thr Ile Asn Pro Val Gln Met Leu His Asp 355 360 365	1104

ttc tcc aag tac cgg cag cga atc aaa cag cac gac gct gac gtc cac Phe Ser Lys Tyr Arg Gln Arg Ile Lys Gln His Ala Asp Ala Val His 370 375 380	1152
ctc atc tcg cgc gtg aca ttc cat tat aag aga agc agt ctg agt tac Leu Ile Ser Arg Val Thr Phe His Tyr Lys Arg Ser Ser Leu Ser Tyr 385 390 395 400	1200
ttt gga ggc gtg tgt tct cga ata aga ggg gtt ggt gtg aat gag tat Phe Gly Gly Val Cys Ser Arg Ile Arg Gly Val Gly Val Asn Glu Tyr 405 410 415	1248
ggt ctt cca atg gcg gtg gca caa gta tta tca cag agc ctg gct caa Gly Leu Pro Met Ala Val Ala Gln Val Leu Ser Gln Ser Leu Ala Gln 420 425 430	1296
aac ctt gga atc cag tgg gaa cct tcg agc agg aag cca aaa tgt gaa Asn Leu Gly Ile Gln Trp Glu Pro Ser Ser Arg Lys Pro Lys Cys Glu 435 440 445	1344
tgc ata gag tcc tgg ggc ggc tgc atc atg gaa aca ggg gtg tcc Cys Ile Glu Ser Trp Gly Gly Cys Ile Met Glu Glu Thr Gly Val Ser 450 455 460	1392
cac tct cga aag ttc tca aag tgc agc att ttg gag tac aga gac ttt His Ser Arg Lys Phe Ser Lys Cys Ser Ile Leu Glu Tyr Arg Asp Phe 465 470 475 480	1440
tta cag aga ggt ggc gga gca tgt ctt ttc aat agg cca act aag ctg Leu Gln Arg Gly Gly Ala Cys Leu Phe Asn Arg Pro Thr Lys Leu 485 490 495	1488
ttt gag ccc acg gaa tgt gga aat gga tat gtg gag gcc ggg gag gaa Phe Glu Pro Thr Glu Cys Gly Asn Gly Tyr Val Glu Ala Gly Glu Glu 500 505 510	1536
tgc gac tgt ggt ttc cat gtg gaa tgc tat gga gtt tgc tgt aag aag Cys Asp Cys Gly Phe His Val Glu Cys Tyr Gly Val Cys Cys Lys Lys 515 520 525	1584
tgt tcg ctc tcc aat ggg gcc cac tgc agt gac gac ggc ccc tgc tgt aac Cys Ser Leu Ser Asn Gly Ala His Cys Ser Asp Gly Pro Cys Cys Asn 530 535 540	1632
aac acc tca tgt ctt ttt cag tca cga ggg tat gaa tgt cggt gat gcc Asn Thr Ser Cys Leu Phe Gln Ser Arg Gly Tyr Glu Cys Arg Asp Ala 545 550 555 560	1680

gta aac agc tgt gat atc acc gag tac tgc act gga gac tct ggc cag Val Asn Ser Cys Asp Ile Thr Glu Tyr Cys Thr Gly Asp Ser Gly Gln 565 570 575	1728
tgc cca ccg aac ctc cat aaa caa gat ggc tat agc tgc aat caa aat Cys Pro Pro Asn Leu His Lys Gln Asp Gly Tyr Ser Cys Asn Gln Asn 580 585 590	1776
cag ggt cgc tgc tac aat ggc gag tgc aag aca agg gac aat caa tgc Gln Gly Arg Cys Tyr Asn Gly Glu Cys Lys Thr Arg Asp Asn Gln Cys 595 600 605	1824
cag tac atc tgg ggg aca aag gct gcg ggg tca gac aag ttc tgc tat Gln Tyr Ile Trp Gly Thr Lys Ala Ala Gly Ser Asp Lys Phe Cys Tyr 610 615 620	1872
gaa aag ctg aac acg gaa ggc acc gag aag ggc aat tgt gga aag gat Glu Lys Leu Asn Thr Glu Gly Thr Glu Lys Gly Asn Cys Gly Lys Asp 625 630 635 640	1920
gga gac cgg tgg atc ccg tgc agc aag cat gat gtg ttc tgt gga ttt Gly Asp Arg Trp Ile Pro Cys Ser Lys His Asp Val Phe Cys Gly Phe 645 650 655	1968
ctg ctt tgc acc aat ctt acc cga gct cca cgt atc ggt caa ctt caa Leu Leu Cys Thr Asn Leu Thr Arg Ala Pro Arg Ile Gly Gln Leu Gln 660 665 670	2016
gga gag atc atc ccg act tcc ttc tat cat caa ggc cga gtg att gac Gly Glu Ile Ile Pro Thr Phe Tyr His Gln Gly Arg Val Ile Asp 675 680 685	2064
tgc agt ggt gct cat gta gtt tta gac gat gat aca gac gtg ggt tac Cys Ser Gly Ala His Val Val Leu Asp Asp Asp Thr Asp Val Gly Tyr 690 695 700	2112
gtt gaa gat ggg act cog tgt ggc ccc tcc atg atg tgc tta gat cgg Val Glu Asp Gly Thr Pro Cys Gly Pro Ser Met Met Cys Leu Asp Arg 705 710 715 720	2160
aag tgc cta cag att caa gcc ctg aat atg agc agc tgc cca ctt gac Lys Cys Leu Gln Ile Gln Ala Leu Asn Met Ser Ser Cys Pro Leu Asp 725 730 735	2208
tca agg ggt aaa gtc tgc tcc ggc cac ggg gtg tgt agc aac gaa gcc Ser Arg Gly Lys Val Cys Ser Gly His Gly Val Cys Ser Asn Glu Ala 740 745 750	2256

acc tgc atc tgt gat ttc act tgg gca gac tgc agc atc cgg 2304  
Thr Cys Ile Cys Asp Phe Thr Trp Ala Gly Thr Asp Cys Ser Ile Arg  
755 760 765

gat cca gtt cgg aac ccc aac ccc cct aag gat gaa ggc cct aag ggt 2352  
Asp Pro Val Arg Asn Pro Asn Pro Pro Lys Asp Glu Gly Pro Lys Gly  
770 775 780

cct agc gcc acc aat ctc ata ata ggc tcc atc gct ggt gcc atc ctg 2400  
Pro Ser Ala Thr Asn Leu Ile Ile Gly Ser Ile Ala Gly Ala Ile Leu  
785 790 795 800

gta gca gct att gtc ctt ggg ggc aca ggc tgg gga ttt aaa aac gtc 2448  
Val Ala Ala Ile Val Leu Gly Gly Thr Gly Trp Gly Phe Lys Asn Val  
805 810 815

aag aag agg aga ttc gat ccc act cag caa ggc ccc atc tga 2490  
Lys Lys Arg Arg Phe Asp Pro Thr Gln Gln Gly Pro Ile  
820 825

<210> 27  
<211> 829  
<212> PRT  
<213> Mus musculus

<400> 27  
Met Lys Pro Pro Gly Ser Ile Ser Arg Arg Pro Thr Leu Thr Gly Cys  
1 5 10 15

Ser Leu Pro Gly Ala Ser Cys Gly Pro Gly Arg Cys Pro Ala Gly Pro  
20 25 30

Val Pro Ala Arg Ala Pro Pro Cys Arg Leu Leu Leu Val Leu Leu Leu  
35 40 45

Leu Pro Ala Leu Ala Thr Ser Ser Arg Pro Arg Ala Arg Gly Ala Ala  
50 55 60

Ala Pro Ser Ala Pro His Trp Asn Glu Thr Ala Glu Lys Thr Leu Gly  
65 70 75 80

Val Leu Ala Asp Glu Asp Asn Thr Leu Gln Gln Asn Ser Ser Ser Arg

85	90	95
Asn Thr Ser Tyr Ser Ser Ala Val Gln Lys Glu Ile Thr Leu Pro Ser		
100	105	110
Arg Leu Val Tyr Tyr Ile Asn Gln Asp Ser Glu Ser Pro Tyr His Val		
115	120	125
Leu Asp Thr Lys Ala Arg His Gln Gln Lys His Asn Lys Ala Val His		
130	135	140
Leu Ala Gln Ala Ser Phe Gln Ile Glu Ala Phe Gly Ser Lys Phe Ile		
145	150	155
Leu Asp Leu Thr Leu Asn Asn Gly Leu Leu Ser Ser Asp Tyr Val Glu		
165	170	175
Ile His Tyr Glu Asp Gly Lys Gln Met Tyr Ser Lys Gly Gly Glu His		
180	185	190
Cys Tyr Tyr His Gly Ser Ile Arg Gly Val Lys Asp Ser Arg Val Ala		
195	200	205
Leu Ser Thr Cys Asn Gly Leu His Gly Met Phe Glu Asp Asp Thr Phe		
210	215	220
Val Tyr Met Ile Glu Pro Leu Glu Leu Thr Asp Asp Glu Lys Ser Thr		
225	230	235
240		
Gly Arg Pro His Ile Ile Gln Lys Thr Leu Ala Gly Gln Tyr Ser Lys		
245	250	255
Gln Met Lys Asn Leu Ser Thr Asp Gly Ser Asp Gln Trp Pro Leu Leu		
260	265	270
Pro Glu Leu Gln Trp Leu Arg Arg Arg Lys Arg Ala Val Asn Pro Ser		

275

280

285

Arg Gly Val Phe Glu Glu Met Lys Tyr Leu Glu Leu Met Ile Val Asn  
290 295 300

Asp His Lys Thr Tyr Lys Lys His Arg Ser Ser His Ala His Thr Asn  
305 310 315 320

Asn Phe Ala Lys Ser Val Val Asn Leu Val Asp Ser Ile Tyr Lys Glu  
325 330 335

Gln Leu Asn Thr Arg Val Val Leu Val Ala Val Glu Thr Trp Thr Glu  
340 345 350

Lys Asp His Ile Asp Ile Thr Ile Asn Pro Val Gln Met Leu His Asp  
355 360 365

Phe Ser Lys Tyr Arg Gln Arg Ile Lys Gln His Ala Asp Ala Val His  
370 375 380

Leu Ile Ser Arg Val Thr Phe His Tyr Lys Arg Ser Ser Leu Ser Tyr  
385 390 395 400

Phe Gly Gly Val Cys Ser Arg Ile Arg Gly Val Gly Val Asn Glu Tyr  
405 410 415

Gly Leu Pro Met Ala Val Ala Gln Val Leu Ser Gln Ser Leu Ala Gln  
420 425 430

Asn Leu Gly Ile Gln Trp Glu Pro Ser Ser Arg Lys Pro Lys Cys Glu  
435 440 445

Cys Ile Glu Ser Trp Gly Gly Cys Ile Met Glu Glu Thr Gly Val Ser  
450 455 460

His Ser Arg Lys Phe Ser Lys Cys Ser Ile Leu Glu Tyr Arg Asp Phe

465                    470                    475                    480  
Leu Gln Arg Gly Gly Ala Cys Leu Phe Asn Arg Pro Thr Lys Leu  
485                    490                    495  
  
Phe Glu Pro Thr Glu Cys Gly Asn Gly Tyr Val Glu Ala Gly Glu Glu  
500                    505                    510  
  
Cys Asp Cys Gly Phe His Val Glu Cys Tyr Gly Val Cys Cys Lys Lys  
515                    520                    525  
  
Cys Ser Leu Ser Asn Gly Ala His Cys Ser Asp Gly Pro Cys Cys Asn  
530                    535                    540  
  
Asn Thr Ser Cys Leu Phe Gln Ser Arg Gly Tyr Glu Cys Arg Asp Ala  
545                    550                    555                    560  
  
Val Asn Ser Cys Asp Ile Thr Glu Tyr Cys Thr Gly Asp Ser Gly Gln  
565                    570                    575  
  
Cys Pro Pro Asn Leu His Lys Gln Asp Gly Tyr Ser Cys Asn Gln Asn  
580                    585                    590  
  
Gln Gly Arg Cys Tyr Asn Gly Glu Cys Lys Thr Arg Asp Asn Gln Cys  
595                    600                    605  
  
Gln Tyr Ile Trp Gly Thr Lys Ala Ala Gly Ser Asp Lys Phe Cys Tyr  
610                    615                    620  
  
Glu Lys Leu Asn Thr Glu Gly Thr Glu Lys Gly Asn Cys Gly Lys Asp  
625                    630                    635                    640  
  
Gly Asp Arg Trp Ile Pro Cys Ser Lys His Asp Val Phe Cys Gly Phe  
645                    650                    655  
  
Leu Leu Cys Thr Asn Leu Thr Arg Ala Pro Arg Ile Gly Gln Leu Gln

660 665 670

Gly Glu Ile Ile Pro Thr Ser Phe Tyr His Gln Gly Arg Val Ile Asp  
675 680 685

Cys Ser Gly Ala His Val Val Leu Asp Asp Asp Thr Asp Val Gly Tyr  
690 695 700

Val Glu Asp Gly Thr Pro Cys Gly Pro Ser Met Met Cys Leu Asp Arg  
705 710 715 720

Lys Cys Leu Gln Ile Gln Ala Leu Asn Met Ser Ser Cys Pro Leu Asp  
725 730 735

Ser Arg Gly Lys Val Cys Ser Gly His Gly Val Cys Ser Asn Glu Ala  
740 745 750

Thr Cys Ile Cys Asp Phe Thr Trp Ala Gly Thr Asp Cys Ser Ile Arg  
755 760 765

Asp Pro Val Arg Asn Pro Asn Pro Pro Lys Asp Glu Gly Pro Lys Gly  
770 775 780

Pro Ser Ala Thr Asn Leu Ile Ile Gly Ser Ile Ala Gly Ala Ile Leu  
785 790 795 800

Val Ala Ala Ile Val Leu Gly Gly Thr Gly Trp Gly Phe Lys Asn Val  
805 810 815

Lys Lys Arg Arg Phe Asp Pro Thr Gln Gln Gly Pro Ile  
820 825

<210> 28

<211> 2499

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(2496)

<400> 28

atg aag ccg ccc ggc agc agc tcg cgg cag ccg ccc ctg gcg ggc tgc 48  
Met Lys Pro Pro Gly Ser Ser Ser Arg Gln Pro Pro Leu Ala Gly Cys  
1 5 10 15

agc ctt gcc ggc gct tcc tgc ggc ccc caa cgc ggc ccc gcc ggc tgc 96  
Ser Leu Ala Gly Ala Ser Cys Gly Pro Gln Arg Gly Pro Ala Gly Ser  
20 25 30

gtg cct gcc agc gcc ccg cgc acg ccg ccc tgc cgc ctg ctt ctc 144  
Val Pro Ala Ser Ala Pro Ala Arg Thr Pro Pro Cys Arg Leu Leu Leu  
35 40 45

gtc ctt ctc ctg ctg cct ctc gcc gcc tcg tcc cgg ccc cgc gcc 192  
Val Leu Leu Leu Leu Pro Pro Leu Ala Ala Ser Ser Arg Pro Arg Ala  
50 55 60

tgg ggg gct gct gcg ccc agc gct ccg cat tgg aat gaa act gca gaa 240  
Trp Gly Ala Ala Ala Pro Ser Ala Pro His Trp Asn Glu Thr Ala Glu  
65 70 75 80

aaa aat ttg gga gtc ctg gca gat gaa gac aat aca ttg caa cag aat 288  
Lys Asn Leu Gly Val Leu Ala Asp Glu Asp Asn Thr Leu Gln Gln Asn  
85 90 95

agc agc agt aat atc agt tac agc aat gca atg cag aaa gaa atc aca 336  
Ser Ser Ser Asn Ile Ser Tyr Ser Asn Ala Met Gln Lys Glu Ile Thr  
100 105 110

ctg cct tca aga ctc ata tat tac atc aac caa gac tcg gaa agc cct 384  
Leu Pro Ser Arg Leu Ile Tyr Tyr Ile Asn Gln Asp Ser Glu Ser Pro  
115 120 125

tat cac gtt ctt gac aca aag gca aga cac cag caa aaa cat aat aag 432  
Tyr His Val Leu Asp Thr Lys Ala Arg His Gln Gln Lys His Asn Lys  
130 135 140

gct gtc cat ctg gcc cag gca agc ttc cag att gaa gcc ttc ggc tcc 480  
Ala Val His Leu Ala Gln Ala Ser Phe Gln Ile Glu Ala Phe Gly Ser  
145 150 155 160

aaa ttc att ctt gac ctc ata ctg aac aat ggt ttg ttg tct tct gat 528  
Lys Phe Ile Leu Asp Leu Ile Leu Asn Asn Gly Leu Leu Ser Ser Asp  
165 170 175

tat gtg gag att cac tac gaa aat ggg aaa cca cag tac tct aag ggt Tyr Val Glu Ile His Tyr Glu Asn Gly Lys Pro Gln Tyr Ser Lys Gly	576
180 185 190	
gga gag cac tgt tac tac cat gga agc atc aga ggc gtc aaa gac tcc Gly Glu His Cys Tyr Tyr His Gly Ser Ile Arg Gly Val Lys Asp Ser	624
195 200 205	
aag gtg gct ctg tca acc tgc aat gga ctt cat ggc atg ttt gaa gat Lys Val Ala Leu Ser Thr Cys Asn Gly Leu His Gly Met Phe Glu Asp	672
210 215 220	
gat acc ttc gtg tat atg ata gag cca cta gag ctg gtt cat gat gag Asp Thr Phe Val Tyr Met Ile Glu Pro Leu Glu Leu Val His Asp Glu	720
225 230 235 240	
aaa agc aca ggt cga cca cat ata atc cag aaa acc ttg gca gga cag Lys Ser Thr Gly Arg Pro His Ile Ile Gln Lys Thr Leu Ala Gln	768
245 250 255	
tat tct aag caa atg aag aat ctc act atg gaa aga ggt gac cag tgg Tyr Ser Lys Gln Met Lys Asn Leu Thr Met Glu Arg Gly Asp Gln Trp	816
260 265 270	
ccc ttt ctc tct gaa tta cag tgg ttg aaa aga agg aag aga gca gtg Pro Phe Leu Ser Glu Leu Gln Trp Leu Lys Arg Arg Lys Arg Ala Val	864
275 280 285	
aat cca tca cgt ggt ata ttt gaa gaa atg aaa tat ttg gaa ctt atg Asn Pro Ser Arg Gly Ile Phe Glu Glu Met Lys Tyr Leu Glu Leu Met	912
290 295 300	
att gtt aat gat cac aaa acg tat aag aag cat cgc tct tct cat gca Ile Val Asn Asp His Lys Thr Tyr Lys His Arg Ser Ser His Ala	960
305 310 315 320	
cat acc aac aac ttt gca aag tcc gtg gtc aac ctt gtg gat tct att His Thr Asn Asn Phe Ala Lys Ser Val Val Asn Leu Val Asp Ser Ile	1008
325 330 335	
tac aag gag cag ctc aac acc agg gtt gtc ctg gtg gct gta gag acc Tyr Lys Glu Gln Leu Asn Thr Arg Val Val Leu Val Ala Val Glu Thr	1056
340 345 350	
tgg act gag aag gat cag att gac atc acc acc aac cct gtg cag atg Trp Thr Glu Lys Asp Gln Ile Asp Ile Thr Thr Asn Pro Val Gln Met	1104
355 360 365	

ctc cat gag ttc tca aaa tac cgg cag cgc att aag cag cat gct gat			1152
Leu His Glu Phe Ser Lys Tyr Arg Gln Arg Ile Lys Gln His Ala Asp			
370	375	380	
gct gtg cac ctc atc tcg cgg gtg aca ttt cac tat aag aga agc agt			1200
Ala Val His Leu Ile Ser Arg Val Thr Phe His Tyr Lys Arg Ser Ser			
385	390	395	400
ctg agt tac ttt gga ggt gtc tgt tct cgc aca aga gga gtt ggt gtg			1248
Leu Ser Tyr Phe Gly Gly Val Cys Ser Arg Thr Arg Gly Val Gly Val			
405	410	415	
aat gag tat ggt ctt cca atg gca gtg gca caa gta tta tcg cag agc			1296
Asn Glu Tyr Gly Leu Pro Met Ala Val Ala Gln Val Leu Ser Gln Ser			
420	425	430	
ctg gct caa aac ctt gga atc caa tgg gaa cct tct agc aga aag cca			1344
Leu Ala Gln Asn Leu Gly Ile Gln Trp Glu Pro Ser Ser Arg Lys Pro			
435	440	445	
aaa tgt gac tgc aca gaa tcc tgg ggt ggc tgc atc atg gag gaa aca			1392
Lys Cys Asp Cys Thr Glu Ser Trp Gly Gly Cys Ile Met Glu Glu Thr			
450	455	460	
ggg gtg tcc cat tct cga aaa ttt tca aag tgc agc att ttg gag tat			1440
Gly Val Ser His Ser Arg Lys Phe Ser Lys Cys Ser Ile Leu Glu Tyr			
465	470	475	480
aga gac ttt tta cag aga gga ggt gga gcc tgc ctt ttc aac agg cca			1488
Arg Asp Phe Leu Gln Arg Gly Gly Ala Cys Leu Phe Asn Arg Pro			
485	490	495	
aca aag cta ttt gag ccc acg gaa tgt gga aat gga tac gtg gaa gct			1536
Thr Lys Leu Phe Glu Pro Thr Glu Cys Gly Asn Gly Tyr Val Glu Ala			
500	505	510	
ggg gag gag tgt gat tgt ggt ttt cat gtg gaa tgc tat gga tta tgc			1584
Gly Glu Glu Cys Asp Cys Gly Phe His Val Glu Cys Tyr Gly Leu Cys			
515	520	525	
tgt aag aaa tgt tcc ctc tcc aac ggg gct cac tgc agc gac ggg ccc			1632
Cys Lys Lys Cys Ser Leu Ser Asn Gly Ala His Cys Ser Asp Gly Pro			
530	535	540	
tgc tgt aac aat acc tca tgt ctt ttt cag cca cga ggg tat gaa tgc			1680
Cys Cys Asn Asn Thr Ser Cys Leu Phe Gln Pro Arg Gly Tyr Glu Cys			
545	550	555	560

cg gat gct gtg aac gag tgt gat att act gaa tat tgt act gga gac Arg Asp Ala Val Asn Glu Cys Asp Ile Thr Glu Tyr Cys Thr Gly Asp 565 570 575	1728
tct ggt cag tgc cca cca aat ctt cat aag caa gac gga tat gca tgc Ser Gly Gln Cys Pro Pro Asn Leu His Lys Gln Asp Gly Tyr Ala Cys 580 585 590	1776
aat caa aat cag ggc cgc tgc tac aat ggc gag tgc aag acc aga gac Asn Gln Asn Gln Gly Arg Cys Tyr Asn Gly Glu Cys Lys Thr Arg Asp 595 600 605	1824
aac cag tgt cag tac atc tgg gga aca aag gct gca ggg tct gac aag Asn Gln Cys Gln Tyr Ile Trp Gly Thr Lys Ala Ala Gly Ser Asp Lys 610 615 620	1872
ttc tgc tat gaa aag ctg aat aca gaa ggc act gag aag gga aac tgc Phe Cys Tyr Glu Lys Leu Asn Thr Glu Gly Thr Glu Lys Gly Asn Cys 625 630 635 640	1920
ggg aag gat gga gac cgg tgg att cag tgc agc aaa cat gat gtg ttc Gly Lys Asp Gly Asp Arg Trp Ile Gln Cys Ser Lys His Asp Val Phe 645 650 655	1968
tgt gga ttc tta ctc tgt acc aat ctt act cga gct cca cgt att ggt Cys Gly Phe Leu Leu Cys Thr Asn Leu Thr Arg Ala Pro Arg Ile Gly 660 665 670	2016
caa ctt cag ggt gag atc att cca act tcc ttc tac cat caa ggc cgg Gln Leu Gln Gly Glu Ile Ile Pro Thr Ser Phe Tyr His Gln Gly Arg 675 680 685	2064
gtg att gac tgc agt ggt gcc cat gta gtt tta gat gat gat acg gat Val Ile Asp Cys Ser Gly Ala His Val Val Leu Asp Asp Asp Thr Asp 690 695 700	2112
gtg ggc tat gta gaa gat gga acg cca tgt ggc ccg tct atg atg tgt Val Gly Tyr Val Glu Asp Gly Thr Pro Cys Gly Pro Ser Met Met Cys 705 710 715 720	2160
tta gat cgg aag tgc cta caa att caa gcc cta aat atg agc agc tgt Leu Asp Arg Lys Cys Leu Gln Ile Gln Ala Leu Asn Met Ser Ser Cys 725 730 735	2208
cca ctc gat tcc aag ggt aaa gtc tgt tcg ggc cat ggg gtg tgt agt Pro Leu Asp Ser Lys Gly Lys Val Cys Ser Gly His Gly Val Cys Ser 740 745 750	2256

aat gaa gcc acc tgc att tgt gat ttc acc tgg gca ggg aca gat tgc	2304
Asn Glu Ala Thr Cys Ile Cys Asp Phe Thr Trp Ala Gly Thr Asp Cys	
755 760 765	
agt atc cggtt gat cca gtt agg aac ctt cac ccc ccc aag gat gaa gga	2352
Ser Ile Arg Asp Pro Val Arg Asn Leu His Pro Pro Lys Asp Glu Gly	
770 775 780	
ccc aag ggt cct agt gcc acc aat ctc ata ata ggc tcc atc gct ggt	2400
Pro Lys Gly Pro Ser Ala Thr Asn Leu Ile Ile Gly Ser Ile Ala Gly	
785 790 795 800	
gcc atc ctg gta gca gct att gtc ctt ggg ggc aca ggc tgg gga ttt	2448
Ala Ile Leu Val Ala Ala Ile Val Leu Gly Gly Thr Gly Trp Gly Phe	
805 810 815	
aaa aat gtc aag aag aga agg ttc gat cct act cag caa ggc ccc atc	2496
Lys Asn Val Lys Lys Arg Arg Phe Asp Pro Thr Gln Gln Gly Pro Ile	
820 825 830	
tga	2499
<210> 29	
<211> 832	
<212> PRT	
<213> Homo sapiens	
<400> 29	
Met Lys Pro Pro Gly Ser Ser Ser Arg Gln Pro Pro Leu Ala Gly Cys	
1 5 10 15	
Ser Leu Ala Gly Ala Ser Cys Gly Pro Gln Arg Gly Pro Ala Gly Ser	
20 25 30	
Val Pro Ala Ser Ala Pro Ala Arg Thr Pro Pro Cys Arg Leu Leu Leu	
35 40 45	
Val Leu Leu Leu Pro Pro Leu Ala Ala Ser Ser Arg Pro Arg Ala	
50 55 60	
Trp Gly Ala Ala Ala Pro Ser Ala Pro His Trp Asn Glu Thr Ala Glu	
65 70 75 80	

Lys Asn Leu Gly Val Leu Ala Asp Glu Asp Asn Thr Leu Gln Gln Asn  
85 90 95

Ser Ser Ser Asn Ile Ser Tyr Ser Asn Ala Met Gln Lys Glu Ile Thr  
100 105 110

Leu Pro Ser Arg Leu Ile Tyr Tyr Ile Asn Gln Asp Ser Glu Ser Pro  
115 120 125

Tyr His Val Leu Asp Thr Lys Ala Arg His Gln Gln Lys His Asn Lys  
130 135 140

Ala Val His Leu Ala Gln Ala Ser Phe Gln Ile Glu Ala Phe Gly Ser  
145 150 155 160

Lys Phe Ile Leu Asp Leu Ile Leu Asn Asn Gly Leu Leu Ser Ser Asp  
165 170 175

Tyr Val Glu Ile His Tyr Glu Asn Gly Lys Pro Gln Tyr Ser Lys Gly  
180 185 190

Gly Glu His Cys Tyr Tyr His Gly Ser Ile Arg Gly Val Lys Asp Ser  
195 200 205

Lys Val Ala Leu Ser Thr Cys Asn Gly Leu His Gly Met Phe Glu Asp  
210 215 220

Asp Thr Phe Val Tyr Met Ile Glu Pro Leu Glu Leu Val His Asp Glu  
225 230 235 240

Lys Ser Thr Gly Arg Pro His Ile Ile Gln Lys Thr Leu Ala Gly Gln  
245 250 255

Tyr Ser Lys Gln Met Lys Asn Leu Thr Met Glu Arg Gly Asp Gln Trp  
260 265 270

Pro Phe Leu Ser Glu Leu Gln Trp Leu Lys Arg Arg Lys Arg Ala Val  
275 280 285

Asn Pro Ser Arg Gly Ile Phe Glu Glu Met Lys Tyr Leu Glu Leu Met  
290 295 300

Ile Val Asn Asp His Lys Thr Tyr Lys Lys His Arg Ser Ser His Ala  
305 310 315 320

His Thr Asn Asn Phe Ala Lys Ser Val Val Asn Leu Val Asp Ser Ile  
325 330 335

Tyr Lys Glu Gln Leu Asn Thr Arg Val Val Leu Val Ala Val Glu Thr  
340 345 350

Trp Thr Glu Lys Asp Gln Ile Asp Ile Thr Thr Asn Pro Val Gln Met  
355 360 365

Leu His Glu Phe Ser Lys Tyr Arg Gln Arg Ile Lys Gln His Ala Asp  
370 375 380

Ala Val His Leu Ile Ser Arg Val Thr Phe His Tyr Lys Arg Ser Ser  
385 390 395 400

Leu Ser Tyr Phe Gly Gly Val Cys Ser Arg Thr Arg Gly Val Gly Val  
405 410 415

Asn Glu Tyr Gly Leu Pro Met Ala Val Ala Gln Val Leu Ser Gln Ser  
420 425 430

Leu Ala Gln Asn Leu Gly Ile Gln Trp Glu Pro Ser Ser Arg Lys Pro  
435 440 445

Lys Cys Asp Cys Thr Glu Ser Trp Gly Gly Cys Ile Met Glu Glu Thr  
450 455 460

Gly Val Ser His Ser Arg Lys Phe Ser Lys Cys Ser Ile Leu Glu Tyr  
465 470 475 480

Arg Asp Phe Leu Gln Arg Gly Gly Ala Cys Leu Phe Asn Arg Pro  
485 490 495

Thr Lys Leu Phe Glu Pro Thr Glu Cys Gly Asn Gly Tyr Val Glu Ala  
500 505 510

Gly Glu Glu Cys Asp Cys Gly Phe His Val Glu Cys Tyr Gly Leu Cys  
515 520 525

Cys Lys Lys Cys Ser Leu Ser Asn Gly Ala His Cys Ser Asp Gly Pro  
530 535 540

Cys Cys Asn Asn Thr Ser Cys Leu Phe Gln Pro Arg Gly Tyr Glu Cys  
545 550 555 560

Arg Asp Ala Val Asn Glu Cys Asp Ile Thr Glu Tyr Cys Thr Gly Asp  
565 570 575

Ser Gly Gln Cys Pro Pro Asn Leu His Lys Gln Asp Gly Tyr Ala Cys  
580 585 590

Asn Gln Asn Gln Gly Arg Cys Tyr Asn Gly Glu Cys Lys Thr Arg Asp  
595 600 605

Asn Gln Cys Gln Tyr Ile Trp Gly Thr Lys Ala Ala Gly Ser Asp Lys  
610 615 620

Phe Cys Tyr Glu Lys Leu Asn Thr Glu Gly Thr Glu Lys Gly Asn Cys  
625 630 635 640

Gly Lys Asp Gly Asp Arg Trp Ile Gln Cys Ser Lys His Asp Val Phe  
645 650 655

Cys Gly Phe Leu Leu Cys Thr Asn Leu Thr Arg Ala Pro Arg Ile Gly  
660 665 670

Gln Leu Gln Gly Glu Ile Ile Pro Thr Ser Phe Tyr His Gln Gly Arg  
675 680 685

Val Ile Asp Cys Ser Gly Ala His Val Val Leu Asp Asp Asp Thr Asp  
690 695 700

Val Gly Tyr Val Glu Asp Gly Thr Pro Cys Gly Pro Ser Met Met Cys  
705 710 715 720

Leu Asp Arg Lys Cys Leu Gln Ile Gln Ala Leu Asn Met Ser Ser Cys  
725 730 735

Pro Leu Asp Ser Lys Gly Lys Val Cys Ser Gly His Gly Val Cys Ser  
740 745 750

Asn Glu Ala Thr Cys Ile Cys Asp Phe Thr Trp Ala Gly Thr Asp Cys  
755 760 765

Ser Ile Arg Asp Pro Val Arg Asn Leu His Pro Pro Lys Asp Glu Gly  
770 775 780

Pro Lys Gly Pro Ser Ala Thr Asn Leu Ile Ile Gly Ser Ile Ala Gly  
785 790 795 800

Ala Ile Leu Val Ala Ala Ile Val Leu Gly Gly Thr Gly Trp Gly Phe  
805 810 815

Lys Asn Val Lys Lys Arg Arg Phe Asp Pro Thr Gln Gln Gly Pro Ile  
820 825 830

<210> 30

<211> 37

<212> DNA  
<213> Artificial/Unknown

<220>  
<223> primer

<400> 30  
ccggtcgacc accatggaac tccggacccg aggtctgg 37

<210> 31  
<211> 32  
<212> DNA  
<213> Artificial/Unknown

<220>  
<223> primer

<400> 31  
ccgaattctt accggccacct gggcctggct gc 32

<210> 32  
<211> 35  
<212> DNA  
<213> Artificial/Unknown

<220>  
<223> primer

<400> 32  
ccgctcgagc caccatgaag ccttttcata ctgcc 35

<210> 33  
<211> 30  
<212> DNA  
<213> Artificial/Unknown

<220>  
<223> primer

<400> 33  
tccgaattct tattgttgtt aggtccgtgg 30

<210> 34  
<211> 36

<212> DNA  
<213> Artificial/Unknown

<220>  
<223> primer

<400> 34  
ccgctcgagc caccatgttg gctgcaaggc tggtgt 36

<210> 35  
<211> 31  
<212> DNA  
<213> Artificial/Unknown

<220>  
<223> primer

<400> 35  
ccggatatact catttctttc ttttgccctcc a 31

<210> 36  
<211> 34  
<212> DNA  
<213> Artificial/Unknown

<220>  
<223> primer

<400> 36  
ccgctcgagc caccatgagc acctcgcttg cggcg 34

<210> 37  
<211> 29  
<212> DNA  
<213> Artificial/Unknown

<220>  
<223> primer

<400> 37  
tccgttaact taatagtcat catagttca 29

<210> 38  
<211> 20

<212> DNA  
<213> Artificial/Unknown

<220>  
<223> primer

<400> 38  
agtcattac tgtatattta 20

<210> 39  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> Artificial/Unknown

<220>  
<223> primer

<400> 39  
gctatatttc ataagtcatc 20

<210> 40  
<211> 26  
<212> DNA  
<213> Artificial/Unknown

<220>  
<223> primer

<400> 40  
ctcggaaagc gcgccattgt gtttgt 26

<210> 41  
<211> 34  
<212> DNA  
<213> Artificial/Unknown

<220>  
<223> primer

<400> 41  
ccgctcgagc caccatgcgt ttttgctct tctc 34

<210> 42  
<211> 28

<212> DNA  
<213> Artificial/Unknown

<220>  
<223> primer

<400> 42  
cggaattctt attgggtcac tctgtctg 28

<210> 43  
<211> 33  
<212> DNA  
<213> Artificial/Unknown

<220>  
<223> primer

<400> 43  
acgcgtcgac ccaccatgcc ccgctacgag ttg 33

<210> 44  
<211> 29  
<212> DNA  
<213> Artificial/Unknown

<220>  
<223> primer

<400> 44  
attgaattct cacttcttcc tccctttg 29

<210> 45  
<211> 35  
<212> DNA  
<213> Artificial/Unknown

<220>  
<223> primer

<400> 45  
ccgctcgagc caccatgaag ccgccccggca gcattc 35

<210> 46  
<211> 29

<212> DNA  
<213> Artificial/Unknown

<220>  
<223> primer

<400> 46  
cggaattctc agatggggcc ttgctgagt

29

## 請求の範囲

1. 以下の (A) または (B) のポリペプチドをコードするDNA。
  - (A) 配列番号19、配列番号23、および、配列番号25からなる群から選ばれるアミノ酸配列を少なくとも有するポリペプチド。
  - (B) (A) に記載のアミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸が置換、欠失または挿入されたアミノ酸配列を有し、かつ、造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖または生存を支持する活性を有するポリペプチド。
2. 以下の (a) または (b) のDNAである請求項1記載のDNA。
  - (a) 配列番号18において塩基番号1～444からなる塩基配列、配列番号22において塩基番号642～1370からなる塩基配列、および、配列番号24において塩基番号132～506からなる塩基配列からなる群から選ばれる塩基配列を少なくとも有するDNA。
  - (b) (a) に記載の塩基配列を有するDNAまたは同DNAから調製され得るプローブとストリンジエントな条件下でハイブリダイズし、かつ、造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖または生存を支持する活性を有するポリペプチドをコードするDNA。
3. 前記ストリンジエントな条件が、6×SSC、5×Denhardt、0.5% SDS、68°C (SSC; 3M NaCl、0.3M クエン酸ナトリウム) (50×Denhardt; 1% BSA、1% ポリビニルビロリドン、1% Ficoll 400) または6×SSC、5×Denhardt、0.5% SDS、50% ホルムアミド、42°Cである請求項2記載のDNA。
4. 請求項1～3のいずれか一項に記載のDNAを発現可能な形態で含む発現ベクター。
5. 請求項1～3のいずれか一項に記載のDNAが発現可能な形態で導入された細胞。
6. 請求項1～3のいずれか一項に記載のDNAの発現産物であり、造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖または生存を支持する活性を有するポリペプチド。
7. 配列番号19、配列番号23、および、配列番号25からなる群から選ば

れるアミノ酸配列、または、このアミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸が置換、欠失または挿入されたアミノ酸配列を有する請求項6記載のポリペプチド。

8. ポリエチレングリコール(PEG)、デキストラン、ポリ(N-ビニルーピロリドン)、ポリプロピレングリコールホモポリマー、ポリプロピレンオキシド/エチレンオキシドのコポリマー、ポリオキシエチル化ポリオール、ポリビニルアルコールのいずれか、またはそれらの2種以上の組合せによって修飾された請求項6又は7に記載のポリペプチド。

9. 請求項6～8のいずれか一項に記載のポリペプチドに結合するモノクローナル抗体。

10. 以下の(A)または(B)のポリペプチドをコードするDNAが発現したストローマ細胞を造血幹細胞または造血前駆細胞と共に培養することを含む、造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖または生存を支持する方法。

(A) 配列番号9、配列番号11、配列番号13、配列番号15、配列番号17、配列番号19、配列番号21、配列番号23、配列番号25、配列番号27、および、配列番号29からなる群から選ばれるアミノ酸配列を少なくとも有するポリペプチド。

(B) (A)に記載のアミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸が置換、欠失または挿入されたアミノ酸配列を有し、かつ、造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖または生存を支持する活性を有するポリペプチド。

11. DNAが以下の(a)または(b)のDNAである請求項10記載の方法。

(a) 配列番号8において塩基番号1～1671からなる塩基配列、配列番号10において塩基番号1～1674からなる塩基配列、配列番号12において塩基番号1～366からなる塩基配列、配列番号14において塩基番号84～1121からなる塩基配列、配列番号16において塩基番号1～1035からなる塩基配列、配列番号18において塩基番号1～444からなる塩基配列、配列番号20において塩基番号1～444からなる塩基配列、配列番号22において塩基番号642～1370からなる塩基配列、配列番号24において塩基番号132～506からなる

塩基配列、配列番号 2 6 において塩基番号 1 ~ 2 4 8 7 からなる塩基配列、および、配列番号 2 8 において塩基番号 1 ~ 2 4 9 6 からなる塩基配列、からなる群から選ばれる塩基配列を少なくとも有する D N A。

(b) (a) に記載の塩基配列を有する D N A または同 D N A から調製され得るプローブとストリンジエントな条件下でハイブリダイズし、かつ、造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖または生存を支持する活性を有するポリペプチドをコードする D N A。

1 2. 以下の (A) または (B) のポリペプチドであって、その存在下で造血幹細胞または造血前駆細胞を培養したときに造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖または生存を支持する活性を示すポリペプチドの存在下で造血幹細胞または造血前駆細胞を培養することを含む、造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖または生存を支持する方法。

(A) 配列番号 9、配列番号 1 1、配列番号 1 3、配列番号 1 5、配列番号 1 7、配列番号 1 9、配列番号 2 1、配列番号 2 3、配列番号 2 5、配列番号 2 7、および、配列番号 2 9 からなる群から選ばれるアミノ酸配列を少なくとも有するポリペプチド。

(B) (A) に記載のアミノ酸配列において、1 若しくは数個のアミノ酸が置換、欠失または挿入されたアミノ酸配列を有し、かつ、造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖または生存を支持する活性を有するポリペプチド。

1 3. 以下の (A) または (B) のポリペプチドであって、その存在下で造血幹細胞または造血前駆細胞を培養したときに、造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖または生存を支持する活性を示すポリペプチドを有効成分として含む、造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖または生存を支持し得る医薬組成物。

(A) 配列番号 9、配列番号 1 1、配列番号 1 3、配列番号 1 5、配列番号 1 7、配列番号 1 9、配列番号 2 1、配列番号 2 3、配列番号 2 5、配列番号 2 7、および、配列番号 2 9 からなる群から選ばれるアミノ酸配列を少なくとも有するポリペプチド。

(B) (A) に記載のアミノ酸配列において、1 若しくは数個のアミノ酸が置換、

欠失または挿入されたアミノ酸配列を有し、かつ、造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖または生存を支持する活性を有するポリペプチド。

## 要約書

造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖または生存を支持する細胞、および支持しない細胞の細胞間で発現する遺伝子を比較することで、造血幹細胞または造血前駆細胞を支持する活性を有するのポリペプチドをコードする遺伝子を単離し、単離された遺伝子を発現するストローマ細胞または単離された遺伝子の発現産物を用いて造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖または生存を支持する。

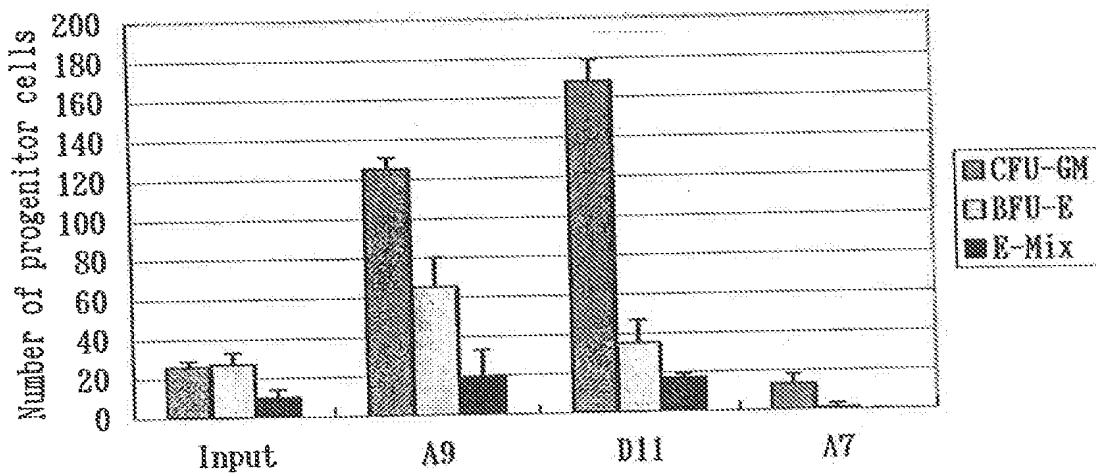


Fig.1

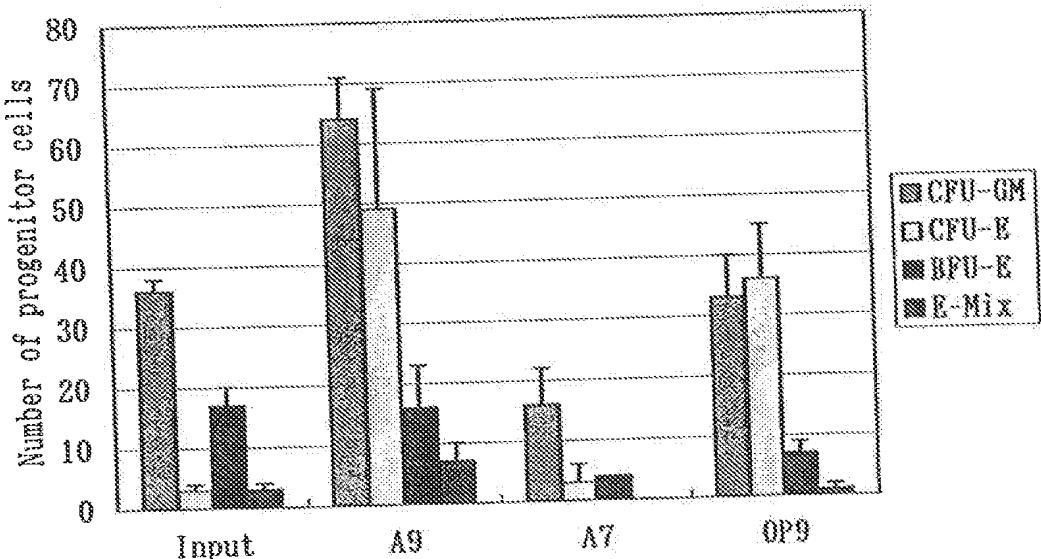


Fig.2

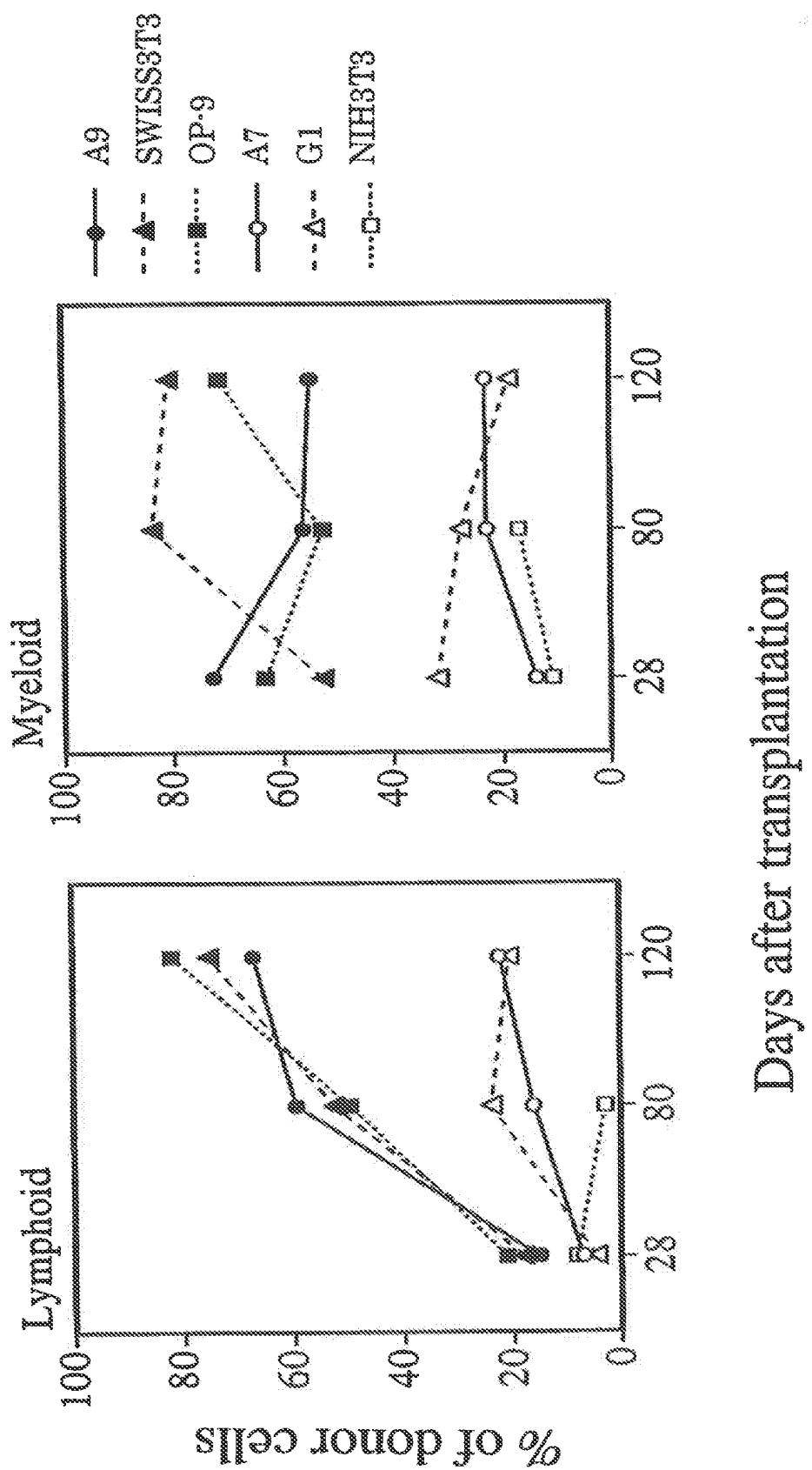


Fig.3

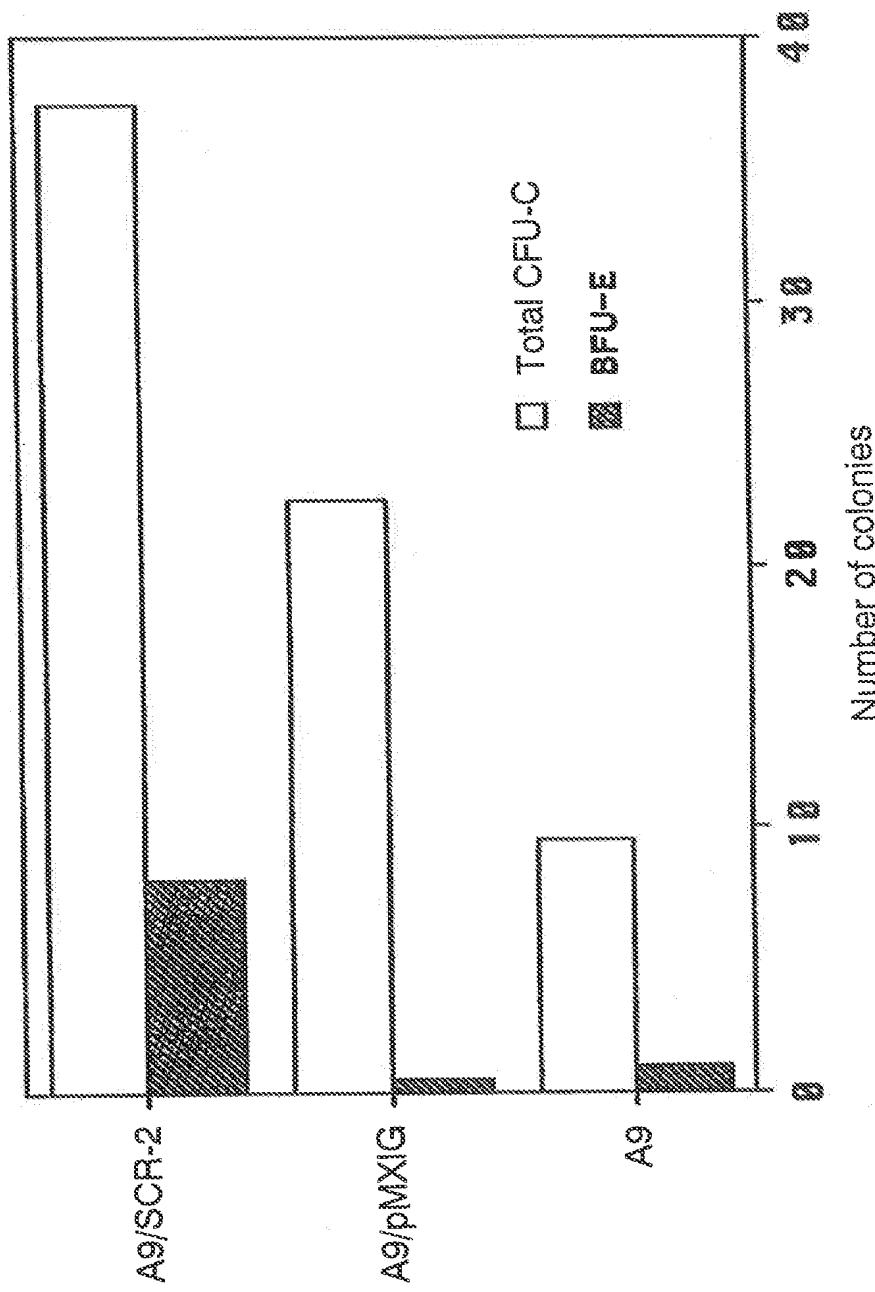


Fig. 4

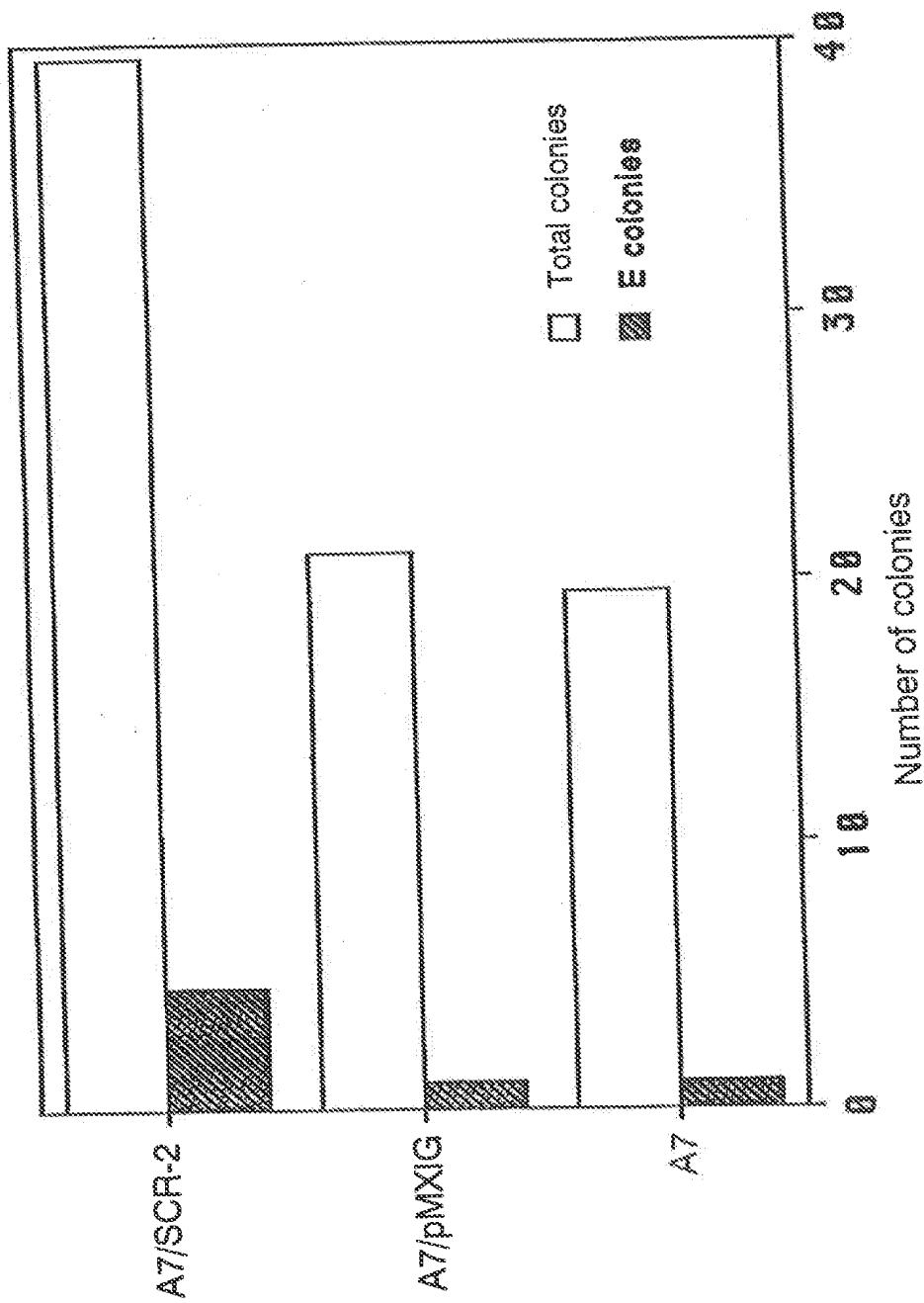
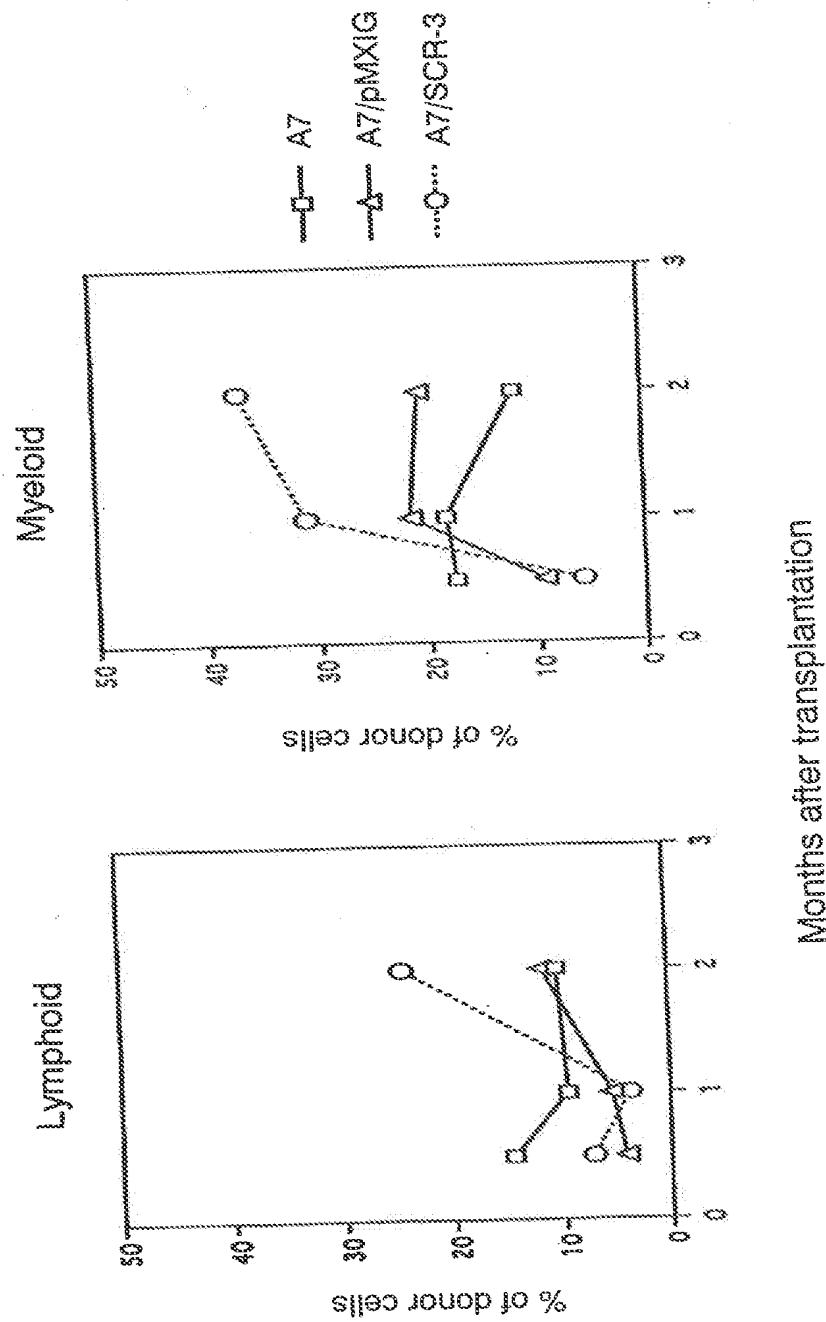


Fig. 5



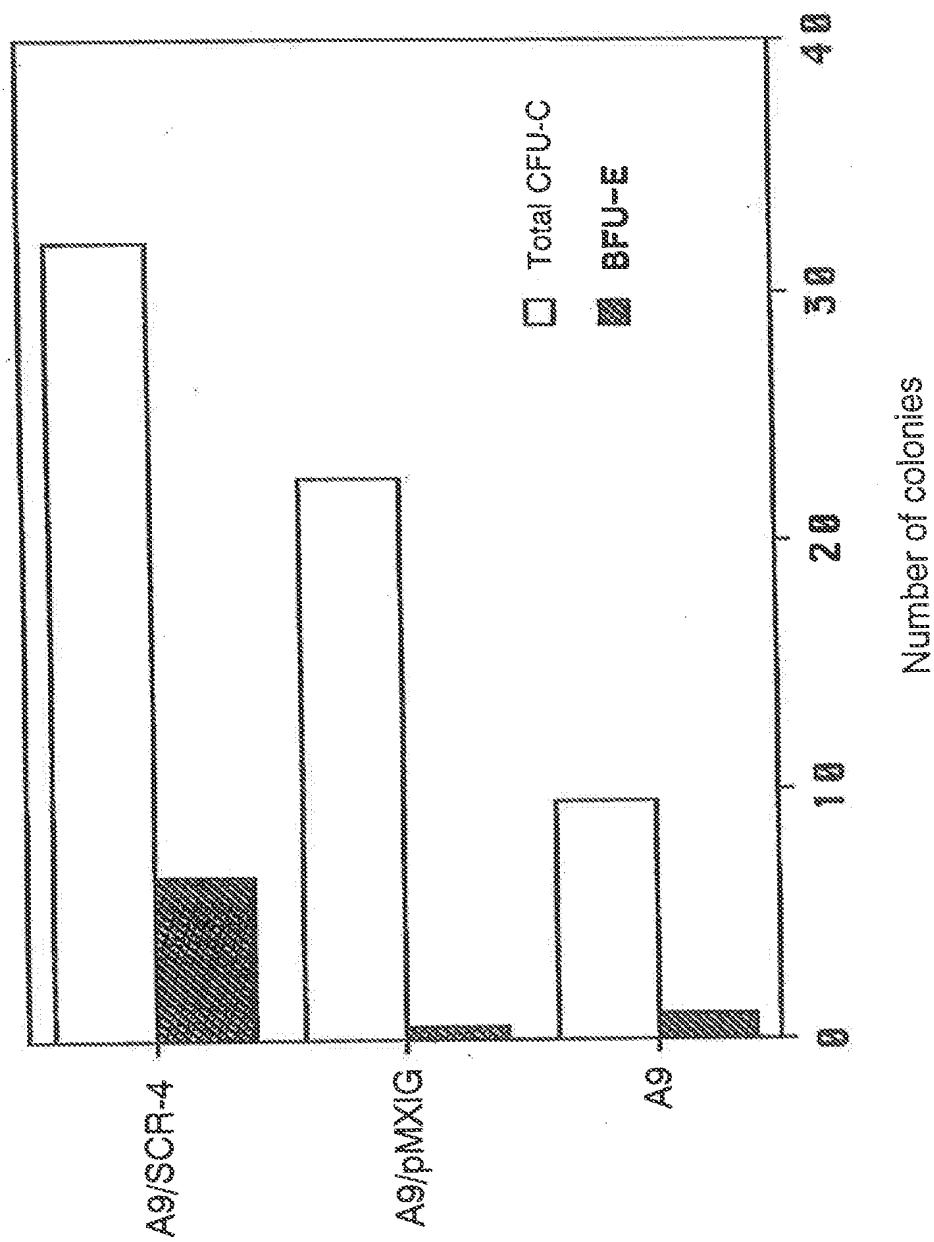
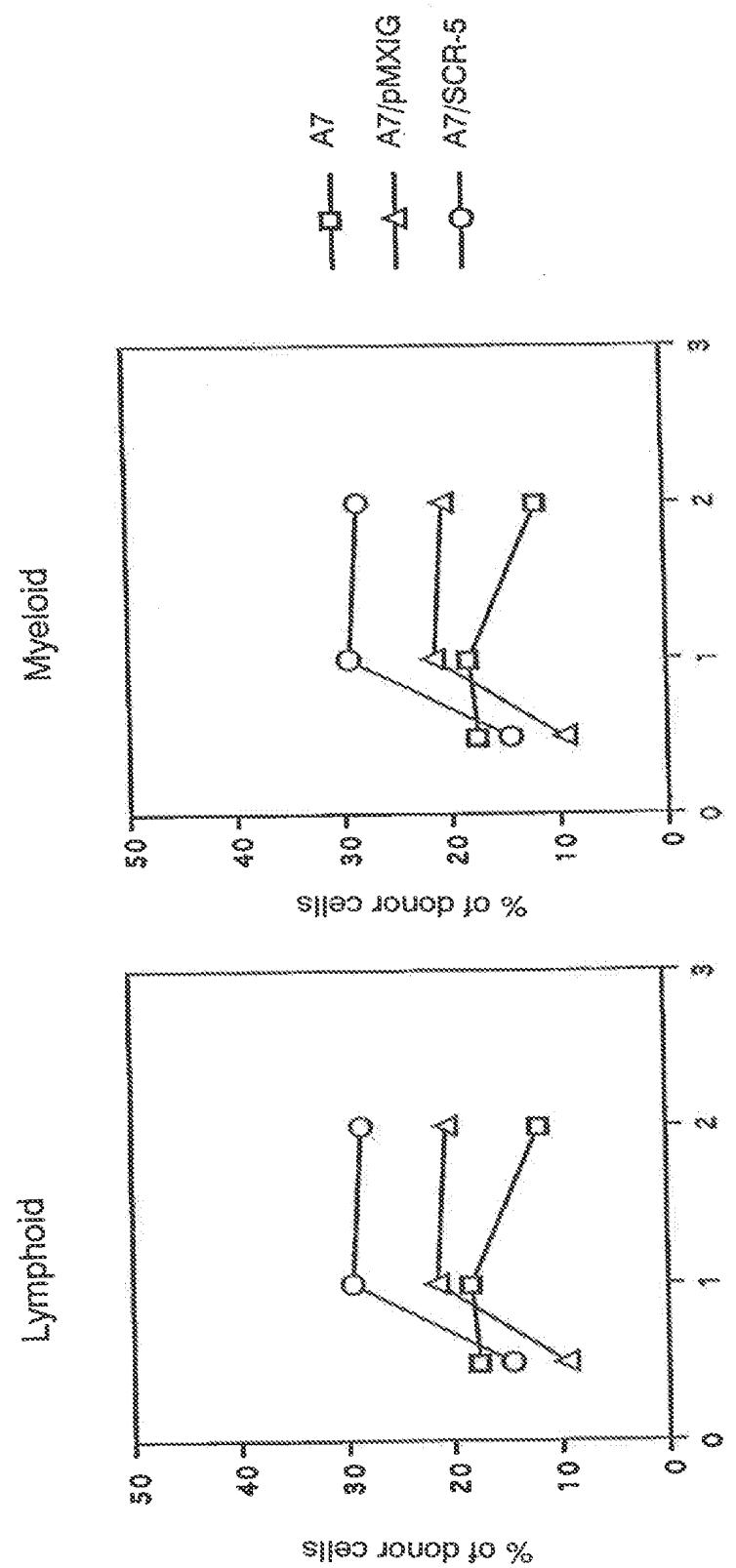


Fig. 7



Months after transplantation

Fig. 8

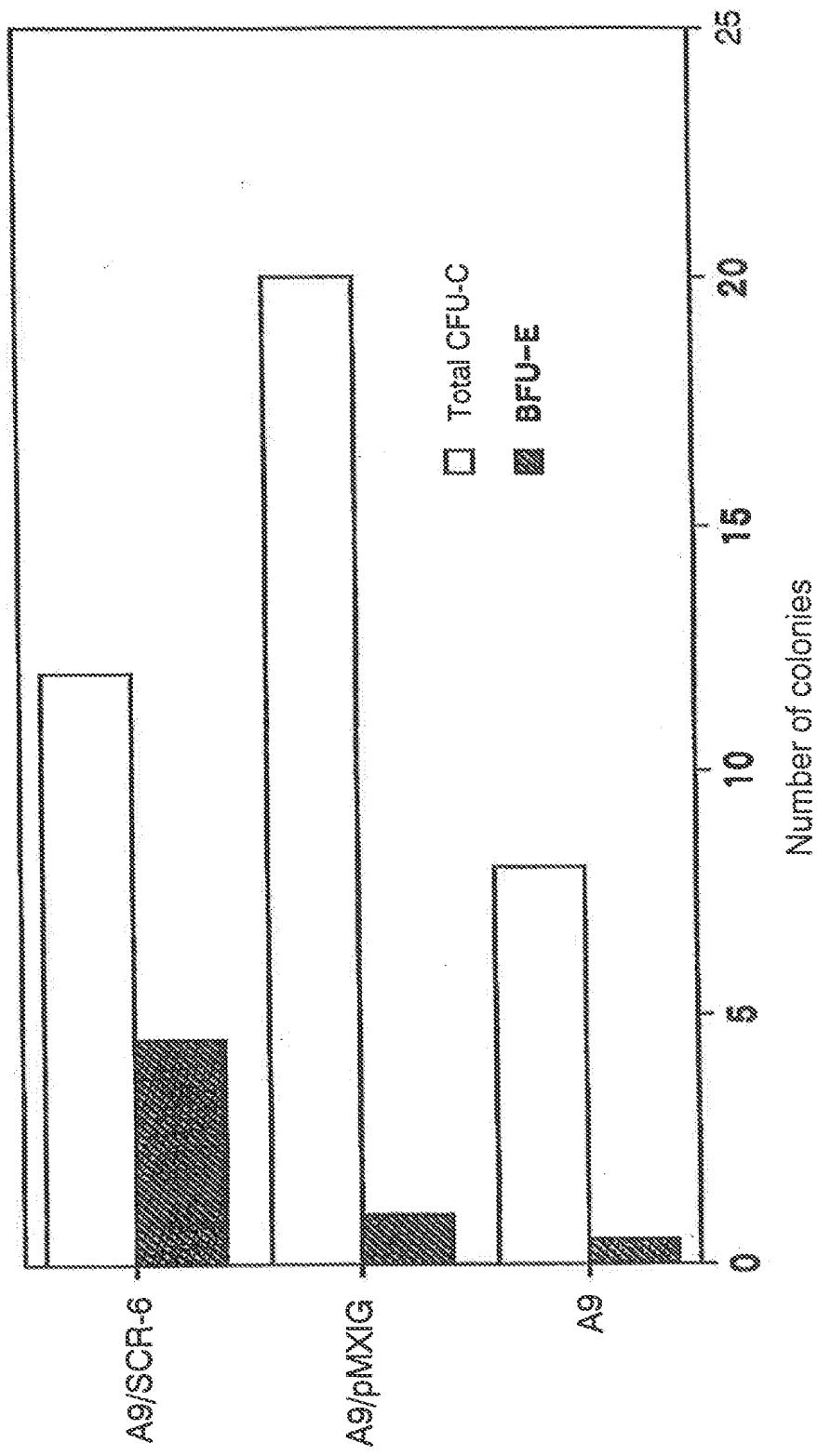


Fig. 9

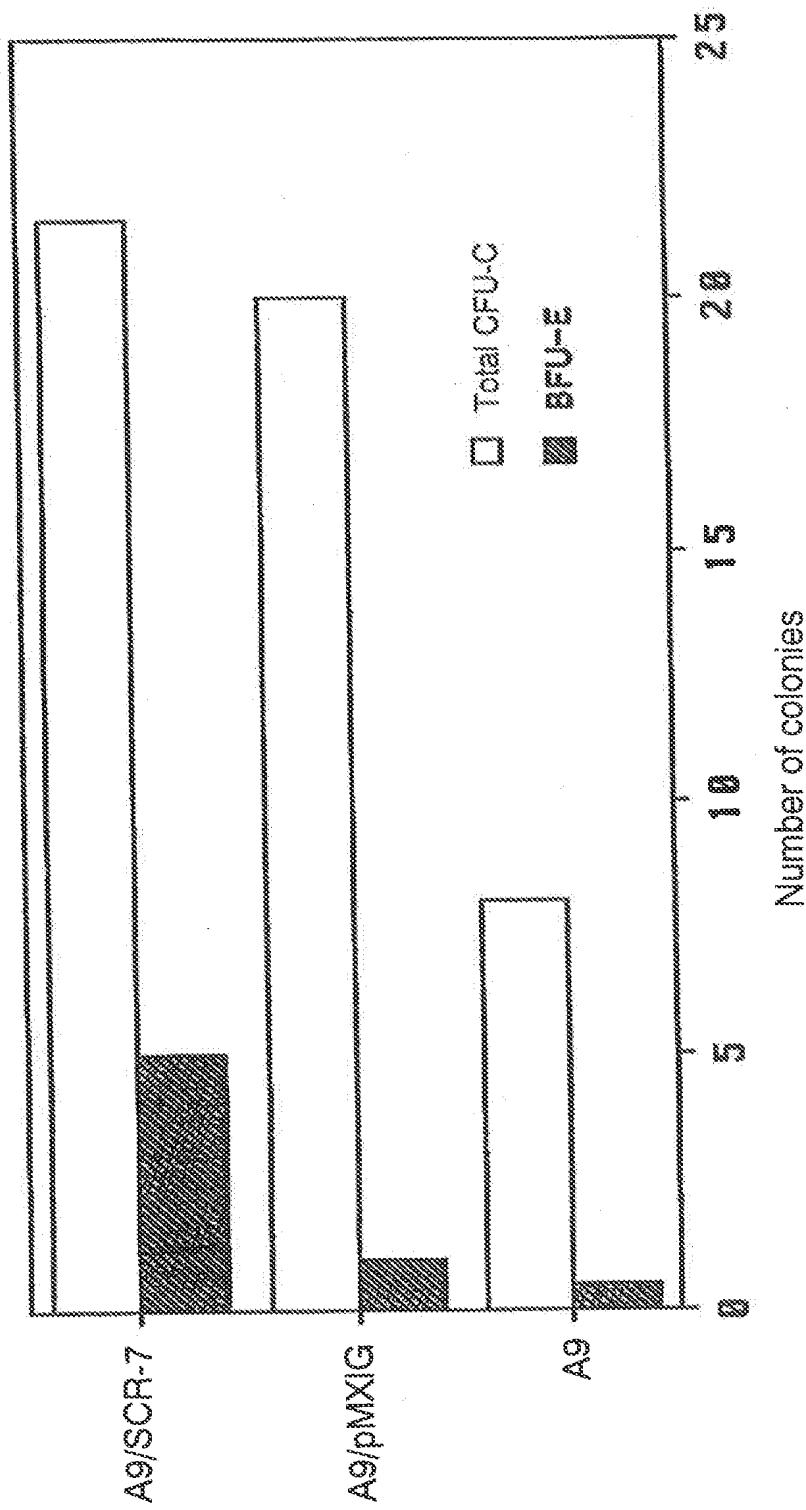


Fig. 10

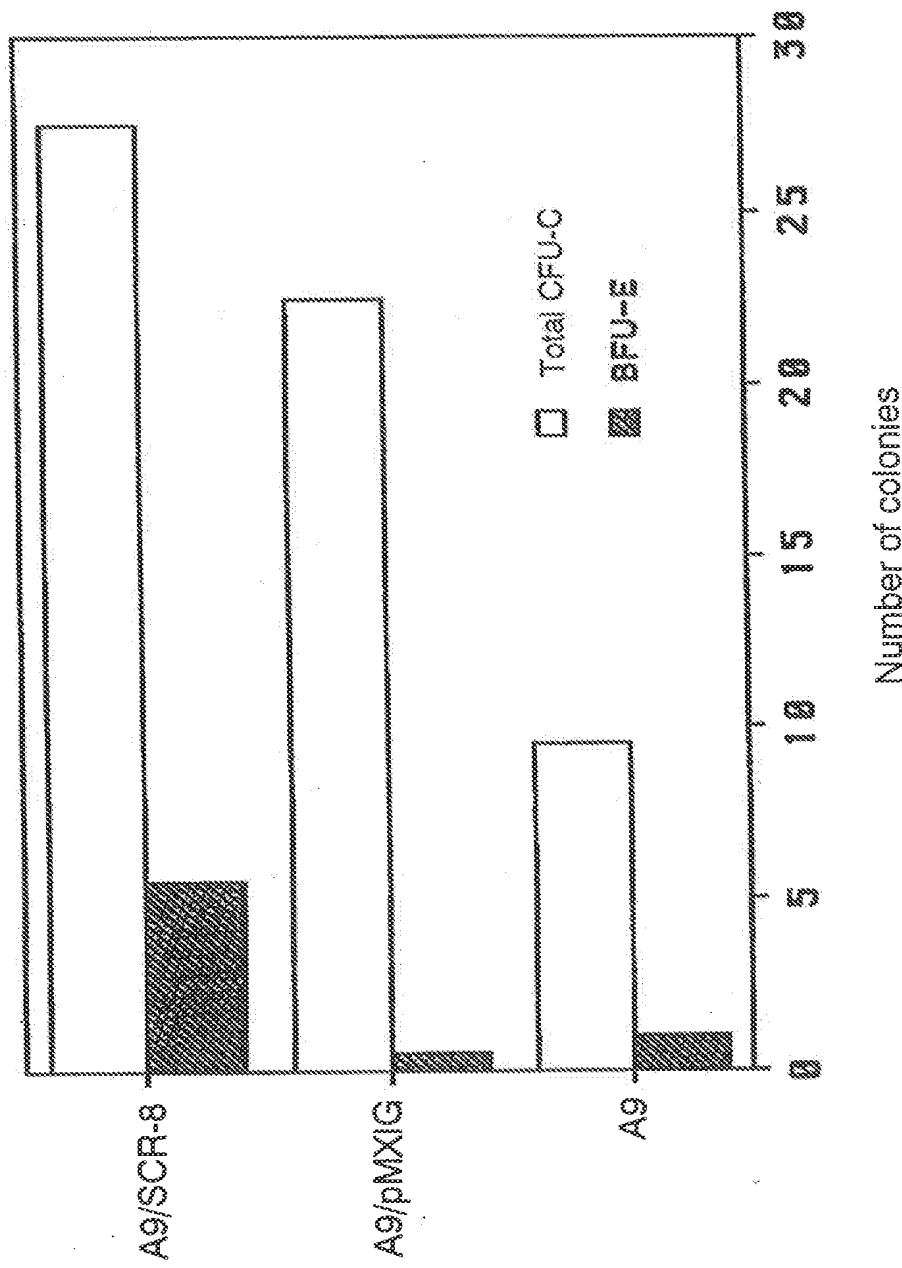


Fig. 11